

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Évaluation de la toxicité du béryllium métal chez la souris

Par

Julienne LAMA

Département de santé environnementale et santé au travail

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maîtrise es sciences (M.Sc)

En Santé environnementale et santé au travail

Mai, 2007

**© Julienne Lama, 2007
Université de Montréal**

Faculté des études supérieures



Ce mémoire intitulé :

Évaluation de la toxicité du béryllium métal chez la souris

Présenté par :

Julienne LAMA

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Président-rapporteur	:	Robert Tardif Ph.D.
Directeur de recherche	:	Joseph Zayed, Ph.D.
Codirecteur	:	Jean Lambert, Ph.D.
Membre du jury	:	Adolf Vyskocil, Ph.D.

SOMMAIRE

Le béryllium (Be) est un élément ubiquiste dans l'environnement. C'est un métal très prisé dans le domaine de la haute technologie à cause de ses propriétés physico-chimiques intéressantes. Toutefois, il est à l'origine de problèmes de santé chez les travailleurs et est reconnu comme cancérigène chez l'animal et cancérigène possible chez l'humain. Il est surtout à l'origine de certaines maladies immuno-allergiques dont la béryllose chronique, précédée d'une sensibilisation. Il est donc nécessaire de surveiller l'exposition humaine à ce métal et ses composés, afin de déterminer les effets liés à une exposition chronique.

L'objectif principal de la présente étude était donc d'évaluer à l'aide d'un modèle animal, le rôle de la granulométrie dans la toxicité du Be métal. Pour ce faire, trois groupes de souris mâles de lignée C3H/HeJ ont été utilisés dont un groupe contrôle et deux groupes exposés aux particules totales ou respirables, par inhalation par la voie nasale seulement, 6 heures/jour, 5 jours/semaine pendant 3 semaines, à des concentrations de 250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

L'histologie pulmonaire des souris après l'exposition, a montré une différence de degré d'inflammation dans les trois groupes. Absente dans le groupe contrôle, l'inflammation était modérée dans le groupe exposé aux particules totales, et sévère chez les exposés aux particules respirables.

Le test de prolifération lymphocytaire n'a pas donné de résultat positif, suggérant ainsi, que la diminution des concentrations de sulfate de Be utilisé pour ce test pourrait peut-être donner des résultats intéressants.

Les concentrations urinaires de Be pendant l'exposition étaient nettement plus élevées qu'avant et après l'exposition. Elles sont d'autant plus importantes que les particules sont de petite taille (respirables versus totales), ce qui laisse croire que si les particules respirables s'éliminent plus que le Be total, c'est que leur absorption est plus

importante. Ainsi, l'urine pourrait être considérée comme un indicateur de l'exposition, à tout le moins, lorsque que le niveau d'exposition est relativement élevé.

MOTS-CLÉS : Béryllium, évaluation, toxicité, souris, histopathologie.

ABSTRACT

Beryllium (Be) is an ubiquitous element in the environment. It is a metal used enough in the high technology field because of its interesting physicochemical properties.

However, it has been at the origin of health problems in workers and is recognized as carcinogenic in animal and probably carcinogenic in human. Also, Be is known to induce some immuno-allergic effects as chronic beryllium disease (CBD), preceded by sensitization. It is thus necessary to monitor workers exposure to this metal and its compounds, and determine the effects related to chronic exposure.

The objective of this study was to assess, using an animal model, the role of granulometry in toxicity of Be metal. Three groups of male mice (C3H/HeJ strain) were used. One as a control group and the two other groups were exposed to total or respirable particles by nose only, 6 hours/day, 5 days/week during 3 weeks at 250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. The results obtained show that the pulmonary histology of the mice, after exposure, disclosed a significant difference in degree of inflammation between the three groups. Absent in the control group, the inflammation was moderate in the group exposed to total particles and severe for the one exposed to respirable Be. However, the lymphocyte proliferation test did not give any significant result. Perhaps, the reduction in the Be sulphate concentrations which is used for the test could be appropriate in order to obtain significant effect.

Finally, the urinary Be concentrations during the exposure were significantly higher than before and after exposure, between the three groups. They are more important when the particles are of smaller. This may be due to an increase absorption for fine particles. Thus the urine could be used as a bioindicator for the exposure to Be, at least when the exposure level is relatively high.

KEYWORDS: Beryllium, evaluation, toxicity, mice, histopathology.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	xvii
REMERCIEMENTS.....	xviii
I - INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	44
1.1. Le béryllium.....	45
1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	45
1.1.2. Source et utilisation.....	46
1.2. Exposition au béryllium.....	48
1.2.1. Exposition environnementale.....	48
1.2.2. Exposition professionnelle.....	49
1.2.3. Problématique du béryllium dans le monde et niveaux d'exposition.....	51
1.3. Problématique du béryllium au Québec et niveaux d'exposition.....	52
1.4. Cinétique du béryllium.....	55
1.4.1. Absorption respiratoire.....	55
1.4.2. Absorption cutanée.....	56
1.4.3. Absorption orale.....	56
1.4.4. Distribution.....	57
1.4.5. Métabolisme.....	57
1.4.6. Excrétion.....	58
1.4.7. Demi-vie.....	59
1.5. Effets du béryllium.....	60
1.5.1. Description du système respiratoire.....	60
1.5.2. Toxicité du béryllium.....	62
1.5.3. Physiopathologie.....	66
1.6. Effets découlant d'une exposition aiguë.....	67
1.6.1. Chez l'humain.....	67
1.6.2. Chez l'animal.....	68
1.7. Effets découlant d'une exposition chronique.....	69
1.7.1. Irritation cutanée et sensibilisation.....	69
1.7.2. Béryllose chronique.....	71
1.8. Population à risque.....	73
II - OBJECTIFS DE LA RECHERCHE.....	75
III - MÉTHODOLOGIE.....	77
3.1. Exposition par inhalation nasale.....	79
3.2. Caractéristiques des autres substances chimiques.....	80
3.3. Techniques de prélèvement des organes.....	80
3.4. Évaluation des effets du béryllium.....	82
3.4.1. Test de prolifération lymphocytaire au béryllium (BeLPT).....	82
3.4.2. Dissociation des cellules spléniques.....	83
3.4.3. Histologie pulmonaire.....	86
3.5. Analyse chimique du Be urinaire.....	87
3.6. Surveillance de la contamination et de l'exposition humaine.....	89
3.7. Analyses statistiques.....	90
IV - RÉSULTATS.....	91

4.1 Distribution du béryllium dans la chambre d'inhalation	92
4.2 Concentrations de béryllium dans la chambre d'inhalation.....	94
4.3 Concentrations urinaires de béryllium chez le groupe contrôle et les groupes exposés aux particules totales ou respirables.....	95
4.4 Test de prolifération lymphocytaire au béryllium (BeLPT)	98
4.5 Histopathologie pulmonaire des souris.....	100
V - DISCUSSION.....	104
5.1. Distribution des particules selon l'impacteur en cascades et le Micro orifice uniform deposit impactor (MOUDI).....	105
5.2. Concentrations urinaires de Be	106
5.3. Prolifération lymphocytaire	109
5.4. Histopathologie pulmonaire.....	111
5.5. Extrapolation de la valeur d'exposition chez l'humain	112
VI - CONCLUSION	114
VII - RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	117

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1. Diamètres des particules de Be générées dans la chambre d'inhalation tels qu'évalués à l'aide d'un impacteur en cascades (n = 7)

TABLEAU 2. Diamètres des particules de Be respirable générées dans la chambre d'inhalation tels qu'évalués à l'aide d'un MOUDI (n = 3)

TABLEAU 3. Concentrations moyennes de Be total et respirable ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) dans la chambre d'inhalation pendant les trois semaines d'exposition

TABLEAU 4. Concentrations urinaires moyennes de Be chez les contrôles et les groupes exposés par inhalation au Be total ou respirable (nmol / L)

TABLEAU 5. Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO_4 (1 μmol) dans les 3 groupes

TABLEAU 6. Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO_4 (10 μmol) dans les 3 groupes

TABLEAU 7. Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO_4 (100 μmol) dans les 3 groupes

TABLEAU 8. Score d'inflammation pulmonaire chez le groupe contrôle et les groupes exposés au Be total ou respirable

TABLEAU 9. Comparaison des scores d'inflammation pulmonaire dans le groupe contrôle et les groupes exposés au Be total ou respirable

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. Profil des concentrations urinaires de Be chez les contrôles et les groupes exposés par inhalation au Be total ou respirable.

FIGURE 2. Coupes histologiques représentatives des poumons du groupe contrôle et des groupes exposés par inhalation au Be total ou respirable

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ADN	acide désoxy-ribonucléique
ATPase	adenosine triphosphatase
ATSDR	Agency for Toxic substances and Disease Registry
Be	béryllium
BeF ₂	fluoride de béryllium
BeLPT	beryllium Lymphocyte Proliferation Test
BeO	oxyde de béryllium
Be(SO ₄)	sulfate de béryllium
BeHPO ₄	phosphate de béryllium
Be(OH)	hydroxyde de Be
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CSST	Commission de Santé et Sécurité au Travail
DOE	Department of Energy
EPA	Environmental Protection Agency
WHO	World Health Organisation
IARC	International Agency for Cancer Research
ICRP	International Commission on Radiological Protection
IFN γ	Interferon gamma
IL2	Interleukine 2
INRS	Institut National de la Recherche Scientifique
INSPQ	Institut National de Santé Publique du Québec
IRSST	Institut de Recherche Robert Sauvé en Santé et Sécurité au travail

LBA	Lavage broncho-alvéolaire
LOAEL	Low Observed Adverse Effects Level
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NOAEL	No Observed Adverse Effects Level
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
TLV	Threshold Limit Value
VEM	Valeur d'exposition moyenne
VEMP	Valeur d'exposition moyenne pondérée
°C	degré Celsius
g	gramme
cm ³	centimètre cube
L	litre
m ³	mètre cube
nmol	nanomol
ng	nanogramme
µg	microgramme
µm	micromètre

DÉDICACE

À la mémoire de papa Richard,
à la mémoire de Michel Dierickx,
à toute ma famille,
et à mon amie Élisabeth

REMERCIEMENTS

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers le Docteur Joseph Zayed, professeur au département de Santé environnementale et santé au travail, pour sa direction, son analyse critique, ses conseils et sa disponibilité.

Je remercie le Docteur Jean Lambert, professeur au département de Médecine sociale et préventive pour sa direction, ses conseils et sa disponibilité.

Je remercie tout le personnel du département de Santé environnementale et santé au travail pour leur collaboration à la réalisation de ce travail.

Je suis reconnaissante envers mon frère et conseiller Docteur Dan Lansana pour sa précieuse contribution à ce travail.

I - INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. Le béryllium

1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques

Le béryllium (Be) est un élément de symbole *Be* et de numéro atomique 4. C'est un métal alcalino-terreux. Il est bivalent, de couleur gris acier et il appartient au groupe 2 (II A) du tableau périodique. Le Be n'existe à l'état naturel que sous la forme d'un seul isotope, le ^9Be (WHO, 1990). Quatrième élément du tableau périodique, le béryllium est un métal très prisé dans les industries de haute technologie, compte tenu de ses propriétés physico-chimiques intéressantes : il est le deuxième métal le plus léger des métaux, de poids moléculaire 9,01218 daltons; et 3 fois plus léger que l'aluminium. Le Be est très solide et résistant à la corrosion. Il est 6 fois plus dur que l'acier (Skilleter, 1984; WHO, 1990; Gordon et Bowser, 2003). De même, l'ajout de 2 % de béryllium au cuivre fait que ce dernier devient 6 fois plus rigide qu'à l'état naturel (Klaassen, 2001; ATSDR, 2002; WHO, 2001).

Le Be est également un excellent conducteur thermique et électrique. À titre d'exemple un kilogramme de Be peut absorber la même quantité de chaleur que 5 kilogrammes de cuivre (Marchand-Adam et Valeyre, 2005). Le Be est non magnétique et résiste à l'effet corrosif de l'acide nitrique concentré. Il est modérément inflammable sous forme de particules fines. Dans un espace confiné, un nuage de poussières de ce métal peut exploser en présence d'une source d'ignition (INRS, 1992). Transparent aux rayons X et aux micro-ondes, le Be est à la fois un réflecteur et un émetteur de neutrons par bombardement alpha (WHO, 1990). Sous des conditions normales de température et de pression, il résiste à l'oxydation. C'est un amphotère dont la structure cristalline est hexagonale et il constitue un excellent produit fluorescent (Bruce et Odin, 2001; Gordon et Bowser, 2003). En général le Be et ses composés sont très faiblement solubles dans l'eau avec un coefficient de solubilité de 0,2 pour certains (INSPQ, 2004). Cependant,

lorsqu'ils sont sous forme de sel, ils sont davantage solubles dans l'eau ou les matériaux céramiques.

Le Be a un point de fusion de 1287°C soit le plus élevé de tous les métaux légers. Son point d'ébullition est de 2472°C (WHO, 1990; Bruce et Odin, 2001; WHO, 2001). Sa densité est de 1,8477 g/cm³ (semblable au magnésium). Toutes ces propriétés rendent le Be hautement stratégique pour la haute technologie d'où son utilisation à grande échelle dans différents domaines (Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

Le béryllium solide ne présente pas de toxicité notoire mais, devient très toxique lorsque inhalé sous forme de poussières, de vapeur ou de fumées, même à faibles doses (Bastarache, 2000). Il est à l'origine de pneumopathies sévères et à long terme, peut induire le cancer.

1.1.2. Source et utilisation

Découvert par Louis Nicolas Vauquelin en 1798, le Be fut initialement appelé « glucine » ou « glucinium » en raison de son goût sucré. Le nom de béryllium lui fut attribué par Wöhler et Bussy en 1828 par rapprochement au « berullos », une pierre précieuse ayant une coloration verte rappelant l'eau de mer.

Il existe plusieurs composés de Be tels que l'oxyde de béryllium (BeO), le sulfate de béryllium (BeSO₄), le fluorure de béryllium (BeF₂), le phosphate de béryllium (BeHPO₄), l'hydroxyde de Be (Be(OH)) (Schepers, 1964), et des alliages tels que béryllium-cuivre (Be-Cu), béryllium-aluminium (Be-Al) ou béryllium-nickel (Be-Ni) (ATSDR, 2002).

Le Be est le 35^e élément le plus abondant de la croûte terrestre avec une concentration moyenne de 6 mg/kg (WHO, 1990). Les réserves mondiales sont évaluées à environ 80 000 tonnes dont 65 % seraient aux États-Unis (INRS, 2003). Élément ubiquiste, il se trouve un peu partout dans différents médias naturels tels que les roches, le charbon, le pétrole, les débris volcaniques et les combustibles fossiles, l'air et l'eau

(ATSDR, 2002). Dans de rares endroits, la teneur des sols peut atteindre 60 mg/kg avec un maximum de 300 mg/kg (Bruce et Odin, 2001). Aussi le Be est présent dans certains aliments à des concentrations variables; c'est le cas du haricot dont la concentration pour certaines variétés peut atteindre 2200 µg/kg (ATSDR, 2002). Il est à noter que certaines marques de cigarettes peuvent renfermer environ 0,74 µg/cigarette de Be (ATSDR, 2002).

Le Be n'existe pas de façon isolée dans la croûte terrestre. Il est incorporé à 45 éléments naturels dont 5 ont une importance en matière d'exploitation industrielle. Ce sont le béryl, la bertrandite, le phénacite, le chrysobéryl et la gadolinite. Il s'y trouve sous forme de silicates de bertrandite qui renferme environ 1% de Be et d'aluminosilicates de béryl qui est son minerai principal, avec une teneur en Be pouvant aller au-delà de 4%. De ces 5 éléments, seuls le béryl et la bertrandite sont exploitables et économiquement rentables (INRS, 2003). La bertrandite est devenue la principale source de Be aux États-Unis. En effet, en 2000, ce pays était de loin le plus grand producteur et utilisateur mondial de Be avec une production annuelle qui s'élevait à 318 tonnes, d'une valeur de 140 millions de dollars (United States Geological Survey, 2001). Il existe des mines d'extraction de béryl dans différents pays tels que l'Argentine, le Brésil, l'Inde, le Portugal et certains pays d'Afrique tels que le Zimbabwe (Williams, 1994).

Les principales sources anthropiques de Be sont les poussières générées pendant l'extraction minière et autres activités, les fumées émises lors de la combustion de charbon ou des combustibles fossiles et les aérosols générés en milieu de travail. Dans la majorité des cas, le Be est sous la forme d'oxyde provenant d'activités industrielles.

Les nombreuses propriétés du Be font de lui l'un des métaux les plus utilisés dans plusieurs domaines tels que l'industrie aérospatiale, l'électronique, l'électricité. En médecine, certains alliages dentaires peuvent renfermer entre 0,5 et 2 % de Be (US OSHA 2002a). Ce métal entre également dans la fabrication de différents articles de sport tels que les bâtons de hockey, les bâtons de golf et les cerceaux de bicyclette. Il

entre également dans la fabrication de certains bijoux tels que l'émeraude (INSPQ, 2004; Klaassen, 2001; ATSDR, 2002; CSST, 2004; Maier *et al.* 2003).

1.2. Exposition au béryllium

1.2.1. Exposition environnementale

Le Be est présent presque partout dans l'environnement. Mais en général dans les conditions normales, il est admis que les humains ne sont pas suffisamment exposés à ce métal dans l'air ambiant, au point de présenter des effets nocifs pour leur santé. Des cas de béryllose chronique d'origine environnementale restent exceptionnels. Ainsi en 1949, à Lorain aux États-Unis, 11 personnes atteintes de béryllose chronique ont été identifiées dans la population vivant aux alentours d'une usine de lampes fluorescentes, utilisant le Be, alors qu'elles n'y travaillaient pas. Parmi elles, 10 habitaient dans un rayon d'environ 1 km autour de l'usine (Eisenbud *et al.* 1949). L'apparition de problèmes de santé liés au Be, en dehors d'une exposition professionnelle, a interpellé les scientifiques et les décideurs à conjuguer leurs efforts afin de réglementer cette forme d'exposition. C'est ainsi que la norme d'exposition environnementale a été établie aux États-Unis à 0,01 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ATSDR, 1993; US EPA, 1998). Ce niveau d'exposition est le plus faible dans les conditions normales. Il est à noter qu'il n'existe pas de norme environnementale établie au Québec (INSPQ, 2004).

Le Be se retrouve dans les aliments à des concentrations variant de 0,2 à 2200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ avec pour chef de file une variété de haricot, les fèves soya. Les concentrations dans l'eau aux États-Unis varient de 0,01 à 1,22 $\mu\text{g}/\text{l}$ avec une moyenne de 0,19 $\mu\text{g}/\text{l}$ (Kolan, 2001). L'ingestion journalière de Be par la population générale est évaluée à environ 0,423 μg dont 0,12 μg par la nourriture et 0,3 μg par l'eau selon des calculs effectués en 1987. Il fut établi que la concentration de Be dans l'eau ne devrait pas dépasser 4 $\mu\text{g}/\text{l}$ (US EPA, 1998). Les concentrations moyennes de Be dans l'air ambiant aux États-Unis

sont de l'ordre de $0,00003 \mu\text{g}/\text{m}^3$ tandis que la concentration médiane dans les villes est d'environ $0,0002 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Kolanz, 2001; ATSDR, 2002).

Certaines marques de cigarette ont une teneur en Be comprise entre 0,47 et 0,74 $\mu\text{g}/\text{cigarette}$ et les alliages dentaires peuvent contenir jusqu'à 2 % de Be (INSPQ, 2004). Aucune étude n'a démontré que l'exposition environnementale dans les conditions normales est à l'origine d'effets délétères sur la santé. Toutefois, il est à reconnaître que ce type d'exposition n'est pas encore bien documenté.

1.2.2. Exposition professionnelle

Compte tenu de ses propriétés particulièrement intéressantes, le Be est de plus en plus utilisé dans l'industrie de la haute technologie malgré ses effets toxiques sur la santé. De ce fait, il n'est pas rare de voir des pays confrontés de façon croissante aux problèmes liés à l'exposition des travailleurs à ce métal et ses composés. Aussi dans les années 40, il n'était pas rare de trouver parmi les travailleurs de l'industrie des tubes fluorescents aux États-Unis, des cas de béryllose aiguë et chronique. C'est ainsi qu'est apparue, en 1949, une épidémie de béryllose de plus de 200 cas parmi 23 000 travailleurs à Salem aux États-Unis (Van Ordstrand *et al.* 1945; Hardy et Tabershaw 1946; Eisenbud et Lisson, 1983). Ainsi, les États-Unis furent le premier pays à mettre en place des limites d'exposition en milieu de travail. Récemment, une étude a montré qu'environ 134 000 travailleurs aussi bien au niveau gouvernemental que dans le secteur privé, étaient potentiellement exposés au Be à travers les États-Unis (Henneberger *et al.* 2004).

Des cas de béryllose chronique ont également été diagnostiqués dans une usine où était manipulé uniquement l'alliage 2% béryllium-cuivre. Les procédés utilisés dans cette usine généraient des aérosols de Be dans l'air et, aucune mesure de protection n'était appliquée par les travailleurs. Ceux-ci manipulaient le Be à mains nues et n'étaient même pas informés du danger que représentait ce métal pour leur santé (Balkissoon et Newman, 1999). Les informations obtenues des travailleurs de cette usine, sur les procédés utilisés, de même que l'histoire de deux travailleurs atteints de béryllose

chronique, ont montré que, seul l'alliage béryllium-cuivre était incriminé dans la pathogenèse de cette maladie chez ces travailleurs. Aussi, d'autres études affirment que le degré de toxicité du Be métal et de l'oxyde de Be, est similaire à celui de l'alliage Be-Cu (Hoover et al. 1989).

En plus de la forme chimique du Be, la nature de la tâche et les moyens de protection des travailleurs sont également des facteurs pouvant influencer l'exposition et secondairement, la survenue de la sensibilisation ou de la béryllose chronique. Ainsi les postes de travail et les techniques utilisées pour accomplir différentes tâches seraient importants dans la pathogenèse. C'est ainsi que les machinistes présentent un risque d'exposition plus élevé que les autres travailleurs dans les usines utilisant le Be car les procédés de concassage, de sciage et de polissage, génèrent des poussières et des aérosols de petite taille pouvant être inhalés. Certains travaux ont également démontré que dans les fonderies, les concentrations de Be peuvent être élevées, avec des valeurs moyennes d'environ $0,87 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Johnson et al. 2001).

De nombreuses études ont montré que la sensibilisation et la béryllose chronique peuvent se produire dans des industries où les niveaux d'exposition sont nettement inférieurs à $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pendant 8 heures (Cullen *et al.* 1987; Kreiss *et al.* 1996; Kreiss *et al.* 1997). Il semble que différents facteurs autres que la concentration médiane de Be dans l'air en milieu de travail, soient en rapport avec le risque d'exposition, et par conséquent puissent influencer la pénétration des particules dans le poumon profond. En plus du diamètre de ces aérosols et poussières, compris entre $0,01$ et $5 \mu\text{m}$, le nombre total de ces particules, leur morphologie, la forme chimique du Be, la durée et la voie d'exposition ou les pics d'exposition sont autant de facteurs pouvant influencer la réponse (Henneberger *et al.* 2001; Kent *et al.* 2001; Kreiss *et al.* 1996; Paustenbach *et al.* 2001).

1.2.3. Problématique du béryllium dans le monde et niveaux d'exposition

Les propriétés du Be font de lui l'un des métaux les plus utilisés dans le monde industriel. Ainsi, si certains pays ne l'utilisent pas, ils peuvent être des exportateurs soit du Be, soit de ses minerais. Différentes estimations ont été établies quant au nombre de travailleurs exposés à ce métal et ses composés. L'on estime que 13 900 travailleurs étaient potentiellement exposés au Be métal et 4 305 à l'oxyde de Be aux États-Unis au cours des années 1981-1983 (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH, 1989, Bruce et Odin, 2001). D'autres auteurs estiment qu'en 1971, environ 30 000 travailleurs étaient potentiellement exposés dans 8000 industries utilisant le Be (NIOSH, 1972; Fields, 2001). Avant 1950, plusieurs cas de béryllose chronique parmi les travailleurs étaient dus à des niveaux élevés d'exposition au Be et ses composés. Aux États-Unis des échantillonnages de poussières en milieu de travail ont montré des concentrations de l'ordre de 110-533 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. D'autre part, durant la phase de coulée du Be, des concentrations de 1473-4710 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et même au-delà de 43300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans la zone respiratoire des travailleurs d'une industrie d'alliages de Be, ont été rapportées (Zielinskin, 1961). Aussi, il n'était pas rare de trouver des concentrations de 1 mg/m^3 de Be en milieu de travail dans le passé (Eisenbud et Lisson, 1983). Étant donné que la plupart des pays sont friands de ce métal très prisé dans l'industrie de haute technologie, les problèmes de santé générés par le Be, peuvent se rencontrer un peu partout dans le monde. Mais il est à reconnaître que cette problématique est sous estimée à cause des difficultés diagnostiques et de l'histoire de la maladie qui peut se manifester plusieurs années (jusqu'à 40 ans) après la dernière exposition (Maier, 2001).

En France il n'y a pas de registre des cas béryllose. En 1995, une thèse de médecine a permis de recenser 44 cas de béryllose publiés ou diagnostiqués (Solvignon, 1995). Sur 24 cas de béryllose aiguë, 15 sont survenus après 1950, année à laquelle des mesures de protection furent mises en place. Dix cas ont évolué vers une béryllose chronique. Ainsi, le ministère français du travail a fixé la valeur limite d'exposition

moyenne (VEM) à 0,002 mg/m³, en milieu de travail. Cette valeur est la même aux États-Unis, où elle a été fixée en 1991 par l'ACGIH (INRS, 1992).

Jusqu'à maintenant la Belgique n'a pas connu de problèmes notoires liés à la toxicité du Be. Ce métal, bien qu'utilisé par le passé dans l'industrie des lampes fluorescentes, fut très vite abandonné après la description de ses effets toxiques sur la santé. Cette situation explique la rareté des cas d'intoxication dans ce pays. Seulement 4 demandes d'indemnisation ont été enregistrées auprès du Fonds des Maladies Professionnels en 1970 (Groetenbriel *et al.*, 1970).

L'utilisation sans cesse croissante du Be notamment dans l'industrie atomique et aérospatiale, risque de reposer les problèmes de santé liés à ce métal, comme ce fut le cas aux États-Unis et en France en 1969 (Hasan et Kazemi, 1973; Tolot *et al.* 1974).

Dans le passé, en URSS, des conditions d'exposition similaires à celles des États-Unis étaient présentes dans les industries de Be. Ainsi, durant l'électrolyse des sels de Be, les concentrations atmosphériques pouvaient atteindre 5-700 µg/m³ en milieu de travail (Izmerov, 1985).

1.3. Problématique du béryllium au Québec et niveaux d'exposition

Le béryllium est présent, à des concentrations variables, dans différents médias environnementaux tels que l'air, le sol et l'eau. Au cours des années 40, il n'était pas rare de trouver en milieu de travail, des expositions massives à des concentrations supérieures à 25 mg/m³. Un tel niveau d'exposition avait alors provoqué de graves problèmes de santé, entraînant même des cas de décès. Cette situation interpella les décideurs, les scientifiques et l'ensemble de la société pour que les recherches se multiplient afin d'établir des normes préventives. Ainsi la norme d'exposition encore appelée Threshold Limit Value (TLV), fut établie à 2,0 µg/m³ aux États-Unis en 1949. Cette valeur fut adoptée par l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) en

1959 et par l'Occupational Safety and Health Administration des États-Unis (OSHA) en 1972 (Kolan, 2001). Par la suite l'ACGIH fit une recommandation de $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le niveau d'action mais cela n'a pas empêché l'apparition de nouveaux cas de sensibilisation et de béryllose chronique chez certains travailleurs (CSST, 2004).

Présentement la norme d'exposition occupationnelle est fortement remise en question suite à la découverte récente de travailleurs affectés par la béryllose chronique. À titre d'exemple en 2003, 74 demandes d'indemnisation en rapport avec le béryllium ont été présentées à la Commission de la Santé et Sécurité au Travail (CSST) (CSST, 2004; INSPQ, 2004). Dans les fonderies, environ 40 % des travailleurs sont exposés à des concentrations supérieures à $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Au Québec environ 100 000 travailleurs sont exposés au béryllium (CSST, 2004; INSPQ, 2004). Dans certains établissements où la norme est respectée, des cas de béryllose chronique ont été découverts (Noranda, 2001). Cette situation a déclenché la mise sur pied par la CSST et ses partenaires, notamment l'Institut de recherche en santé et sécurité au travail (IRSST), l'Opération béryllium afin de faire le point sur l'utilisation de ce métal et le niveau d'exposition des travailleurs. Le rapport d'étape de cette opération révèle que 44 établissements comptant plus de 13 000 travailleurs utilisent le béryllium. Il révèle aussi que certains travailleurs sont exposés à des concentrations de l'ordre de $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ce qui est nettement au-dessus de la norme soit $2,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Dans 33 établissements, l'accès aux zones contaminées n'est pas limité. De plus la décontamination se fait seulement dans 8 établissements et enfin, les mesures de protection ne sont appliquées de façon rigoureuse dans aucun établissement (CSST, 2004).

La pertinence de la TLV a donc été remise en question. Certains chercheurs avaient déjà suggéré de la réduire à $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Wambach *et al*, 2000). L'ACGIH (2007) propose maintenant un nouveau seuil de $0,02 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les particules inhalables ($< 100 \mu\text{m}$ de diamètre) alors que le gouvernement du Québec s'apprête à adopter une valeur limite de $0,0024 \mu\text{g}/\text{m}^3$ sur une base horaire (Gazette officielle du Québec, 2002), ainsi qu'une valeur d'exposition moyenne (VEMP sur 8 heures), en milieu de travail de $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Gouvernement du Québec, 2006). Cette différence entre des valeurs limites

d'exposition témoignent d'un certain flou et découlent notamment de l'absence d'études toxicologiques établissant un lien entre la dose d'exposition et les effets sur la santé.

1.4. Cinétique du béryllium

1.4.1. Absorption respiratoire

Bien que la principale voie d'exposition chez l'humain soit l'inhalation, l'on ne dispose pas de données concernant le dépôt dans les poumons ou l'absorption par les voies respiratoires du béryllium inhalé. À la suite d'une exposition par inhalation, l'appareil respiratoire et surtout les poumons constituent le principal système atteint tant chez l'animal que chez l'humain (INSPQ, 2004).

Plusieurs variables sont importantes pour la détermination de la fraction absorbée. En effet, celle-ci dépend entre autres du diamètre des particules et de leur forme chimique. Il semble cependant qu'environ 20 % de la dose respiratoire potentielle de Be soit absorbée. Le reste, non absorbé, remonte le long de l'arbre bronchique par les mouvements mucociliaires des cellules qui tapissent cette voie.

La clairance pulmonaire se fait très lentement pour les composés insolubles. Ainsi, les particules se déposent d'abord dans l'arbre respiratoire pour ensuite être attaquées par les macrophages (Reeves, 1976). Certaines particules sont retenues plusieurs mois, voire plusieurs années dans les poumons pour être graduellement libérées dans le sang. Pour les composés solubles, la clairance pulmonaire se fait rapidement par dissolution dans les fluides pulmonaires et une proportion variable passe dans le sang (Bastarache, 2000). Comme d'autres particules susceptibles d'être inhalées, la déposition et la clairance des particules de Be sont influencées par la concentration d'exposition, la taille des particules et leur degré de solubilité (WHO, 1990).

1.4.2. Absorption cutanée

Le Be et ses composés ne sont pratiquement pas absorbés par la peau intacte parce qu'ils se lient à des constituants de l'épiderme tels que les protéines et les acides nucléiques, pour former des complexes peu diffusibles. Cependant, l'on pense que le contact cutané, suite à une exposition aux fines particules, peut jouer un rôle dans la sensibilisation (Petzow et Zorn, 1974; Williams *et al.* 1987; Bastarache, 2000). Ainsi, l'on a constaté qu'une application de BeSO₄ sur le dos de souris causait une prolifération des lymphocytes sanguins au niveau périphérique (Tinkle, 2002). Toutefois, sur une peau saine, cette voie d'absorption est négligeable par rapport à celle respiratoire (Emond *et al.* 2007). Selon de récentes études, les particules de diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 1 µm sont celles qui pénètrent dans l'épiderme et pourraient représenter 5 % du Be total dans certains milieux de travail (Tinkle *et al.* 2003; Emond *et al.* 2007). Par ailleurs l'absorption cutanée devient importante en cas de lésion de la peau telle qu'une blessure, une abrasion ou même une dermatose (Williams *et al.* 1987). Il est à reconnaître que cette voie d'absorption n'est pas encore bien élucidée et des études sont en cours pour mieux l'étayer.

1.4.3. Absorption orale

Une fois au niveau de l'oropharynx, les particules se retrouvent dans le tractus digestif. L'absorption intestinale quant à elle est très faible par rapport à la voie respiratoire. Elle est de l'ordre de 1 % de la dose potentielle et se fait au niveau des villosités intestinales (Furchner *et al.* 1973; Reeves, 1965; ATSDR, 2002). La quantité absorbée dépend de la dose et de la solubilité des composés. La fraction absorbée passe dans les veines mésentériques puis arrive au foie par la veine porte.

L'absorption gastro-intestinale du Be et de ses composés peut se faire aussi bien en cas d'inhalation que d'exposition par voie orale. Une partie du Be inhalé se retrouve

dans le tractus digestif par un mécanisme mucociliaire ou par la déglutition des particules insolubles déposées au niveau des voies respiratoires supérieures (Reeves, 1965; Furchner *et al.* 1973; US EPA, 1991; ATSDR, 2002).

1.4.4. Distribution

Après une exposition orale, le béryllium et ses composés se retrouvent dans l'estomac puis dans les intestins où ils peuvent être absorbés. Mais la majeure partie est transformée en phosphate colloïdal limitant ainsi son absorption (Furchner *et al.* 1973; Morgareiddge *et al.* 1975; Watanabe *et al.* 1985; LeFevre et Joel, 1986). Une fois dans la circulation sanguine, ils sont transportés dans l'organisme sur des protéines plasmatiques et se retrouvent dans les différents compartiments et autres tissus mous. En cas d'exposition par inhalation, le Be et ses composés ont tendance à s'accumuler principalement dans les poumons.

Dans les expositions importantes, le Be et ses composés peuvent s'accumuler dans les structures hépatiques, rénales, spléniques et ganglionnaires de même que dans les os. Ces derniers constituent ainsi le site de stockage à long terme du Be (Stokinger *et al.* 1953; Clary *et al.* 1975; Sanders *et al.* 1975; Finch *et al.* 1990). Chez la gestante, le Be et ses composés ont été identifiés dans le sang du cordon ombilical (Bastarache, 2000; Marchand-Adam et Valeyre, 2005). Aussi des études ont démontré un transport transplacentaire du Be chez des rates et des souris soumises à des injections intraveineuses (Bencko *et al.* 1979).

1.4.5. Métabolisme

Les avis sont partagés quant au métabolisme du Be. Certaines études affirment que ce métal n'est pas métabolisé tandis que d'autres reconnaissent qu'il l'est partiellement. Mais en général il ne le serait que très faiblement et les particules de Be sont perpétuellement recyclées dans les poumons (Maier, 2003). Les sels solubles de Be

sont en partie transformés en sels moins solubles dans les poumons (US-APE, 1987; ATSDR, 1993). Quant au Be insoluble, une fois phagocyté par les macrophages, il peut être ionisé par les enzymes en occurrence les myéloperoxydases (Leonard et Lauwerys, 1987). Il est à noter que les mécanismes entrant dans la métabolisation et le transport du Be à travers la membrane cellulaire ne sont pas encore bien élucidés (Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

Il n'existe pas d'informations disponibles sur le fait que le béryllium puisse subir un effet de premier passage qui consiste en la métabolisation et l'élimination d'une fraction de ce métal lors de son premier passage dans le foie.

1.4.6. Excrétion

L'élimination du Be est essentiellement urinaire chez les animaux tels que le rat et le cobaye. Pour circuler dans le sang et subir une éventuelle élimination, le Be se lie à la préalbumine (Stiefel *et al.* 1980; Zorn *et al.* 1988). Chez l'humain, l'excrétion de la fraction absorbée est lente et se fait essentiellement par la voie urinaire. Mais un stress tel que la grossesse, une infection ou une chirurgie majeure peut mobiliser le Be de l'organisme et accroître son élimination urinaire. Le Be peut se retrouver dans les urines de travailleurs, à des taux anormalement élevés, plusieurs années après l'exposition, cette période pouvant aller jusqu'à 40 ans (Bastarache, 2000).

Pour la fraction non absorbée par l'organisme, l'élimination se fait principalement par les fèces suite à l'ingestion par voie orale, ou par la clairance mucociliaire en cas d'exposition respiratoire, et dépend de la solubilité des composés. La mobilisation et l'excrétion peuvent se poursuivre durant plusieurs années car le Be peut persister pendant longtemps dans l'organisme après l'arrêt de l'exposition. Il n'y a pas de corrélation évidente entre le développement ou la sévérité de la béryllose chronique et le taux de Be excrété dans l'urine. Ce métal et ses composés ont été identifiés dans le colostrum et le lait maternel (Bastarache, 2000).

1.4.7. Demi-vie

Il faut faire une distinction entre la clairance du Be en cas d'exposition par inhalation et l'élimination totale de ce métal du corps entier. Dans le premier cas, les études indiquent que seuls les formes de Be solubles et non-ioniques tels que le citrate, ont une clairance rapide dans les poumons de l'ordre de 4 jours. Quant à la forme ionique, elle forme un précipité dans le tissu pulmonaire et sa clairance s'effectue de façon biphasique : une première phase rapide et une deuxième phase lente. La première est probablement due à la phagocytose des particules par les macrophages présents dans le système broncho-alvéolaire (Van Cleave et Kaylor, 1955; Kuznetsov *et al.* 1974; Hart et Pittman, 1980; Hart *et al.* 1984; Finch *et al.* 1986). La demi-vie pendant cette phase est de l'ordre de 1 à 60 jours, au cours de laquelle 30 à 50 % du Be inhalé est éliminé (Sanders *et al.* 1975; Rhoads et Sanders, 1985). La deuxième phase a une demi-vie d'environ 0,6-2,3 ans. Cette fraction représente la dissolution lente des particules dans le poumon profond et qui ne sont pas encapsulées dans les granulomes (Reeves, 1968; Rhoads et Sanders, 1985; Finch *et al.* 1986). La demi-vie diffère également selon la solubilité du Be. Ainsi, les composés solubles auraient une demi-vie de l'ordre de quelques semaines voire quelques mois, tandis qu'elle varierait de quelques mois à quelques années pour les composés peu ou non solubles (Bastarache, 2000).

Chez l'humain la demi-vie du Be varie en fonction des différents organes. Ainsi dans un rapport de la Commission Internationale sur la Protection Radiologique (ICRP), la demi-vie du Be a été calculée pour aboutir aux valeurs suivantes : 180, 120, 270, 540 et 450 jours, respectivement dans le corps humain entier, les reins, le foie, la rate et les os (ICRP, 1960).

1.5. Effets du béryllium

1.5.1. Description du système respiratoire

Le système respiratoire permet à l'organisme de s'approvisionner en oxygène (O₂) et d'éliminer le gaz carbonique (CO₂) tout en constituant une barrière de défense pour l'organisme. Il se subdivise en trois compartiments :

- Le naso-pharynx;
- La trachée et l'arbre bronchique, y compris les bronchioles terminales. Ils sont recouverts d'un épithélium cilié et de cellules à mucus;
- Enfin le compartiment pulmonaire proprement dit ou les voies respiratoires inférieures. Il comprend les bronchioles respiratoires et l'ensemble des alvéoles dont la surface est estimée à 80 m² (Lauwerys, 1982). Au niveau des alvéoles en forme de grappes, l'air est séparé du sang capillaire par une fine paroi dont l'épaisseur varie de 1/10 à 1/2 µm (Lauwerys, 1982). Les voies respiratoires inférieures sont recouvertes d'un épithélium non cilié et ne possèdent pas de cellules sécrétrices de mucus. On y trouve par contre 3 types de cellules :
 - Les cellules alvéolaires de type I qui constituent la barrière principale entre la lumière alvéolaire et les capillaires interstitiels. Elles préviennent la transsudation du liquide intra capillaire;
 - Les cellules alvéolaires de type II qui synthétisent et sécrètent la dipalmitolécithine, composant principal du surfactant. C'est un matériel lipidique recouvrant la surface des alvéoles et, grâce à ses propriétés tensio-actives, il prévient l'atélectasie des structures alvéolaires;
 - Les macrophages qui constituent le troisième groupe cellulaire et que l'on retrouve au niveau des alvéoles. Ils jouent un rôle capital dans la phagocytose des particules qui se déposent au niveau du compartiment pulmonaire.

Le système respiratoire constitue une voie d'entrée majeure de différentes substances toxiques présentes en milieu industriel, que sont les gaz, les aérosols, les fumées, les poussières et les vapeurs. La quantité et la localisation des particules qui pénètrent dans l'arbre respiratoire dépendent non seulement des propriétés physiques (diamètre, densité, charge, etc.), des particules inhalées, mais aussi des caractéristiques anatomiques et physiologiques des sujets exposés.

En cas d'inhalation d'une substance toxique, il est aisé de déterminer le degré d'exposition (dose potentielle), mais la quantité absorbée par l'organisme est souvent loin d'être connue. Cette quantité dépendra non seulement de la concentration du toxique dans l'air et de la durée d'exposition, mais également de plusieurs autres facteurs énumérés ci-après. Ainsi, il demeure important de considérer séparément les facteurs influençant l'absorption des gaz et des vapeurs et ceux qui conditionnent celle des aérosols.

Pour les gaz et vapeurs, en plus de la concentration atmosphérique et de la durée d'exposition, les facteurs déterminant la quantité de gaz et vapeurs absorbés sont :

- La solubilité de ces gaz dans le sang et les tissus;
- Le débit sanguin;
- Le gradient de pression partielle de ces gaz entre les alvéoles et le sang veineux;
- La ventilation pulmonaire.

Une augmentation de la ventilation qui a pour effet de réduire la différence de concentration entre l'air inspiré et l'air alvéolaire, facilitera l'absorption des gaz solubles dans le sang et les tissus mais aura peu d'influence sur l'absorption des gaz insolubles dans ces milieux. Ainsi pour un même volume-minute, une respiration rapide et superficielle diminuera le taux de dépôt dans le compartiment alvéolaire alors qu'une respiration profonde exercera un effet inverse.

En ce qui concerne les aérosols, la quantité de toxique inhalé qui atteint la circulation systémique dépend de plusieurs facteurs qui conditionnent les processus de déposition, d'élimination et de rétention. Le dépôt dans les voies respiratoires se fait

surtout par contact, aux endroits où les voies respiratoires changent brusquement de direction et où la vitesse de l'air est rapide. Cela se produit principalement dans le nasopharynx et concerne les particules de diamètre aérodynamique élevé (5 à 30 μm). Les particules de diamètre supérieur à 30 μm pénètrent rarement dans les voies respiratoires et n'ont aucune importance sur le plan physiologique. Dans l'arbre trachéo-bronchique où la vitesse de l'air est plus faible, le dépôt se fait à la fois par contact et par sédimentation alors que, principalement, les particules de diamètre inférieur à 5 μm peuvent atteindre les bronchioles et les alvéoles. Pour les particules inférieures à 1 μm , la diffusion selon le mouvement brownien est le principal mode de dépôt. Ce dernier facteur survient dans les alvéoles où la vitesse de l'air est quasi nulle, mais peut également entrer en jeu dans les autres compartiments tels que les petites bronches (Lipmann *et al.* 1970).

Le risque de dépôt des poussières dans les voies respiratoires inférieures doit particulièrement retenir l'attention, plutôt que le simple dépôt total dans les voies respiratoires. Ainsi, les aérosols dont la taille est comprise entre 0,1 et 1,5 μm sont plus susceptibles de pénétrer dans le poumon profond et se déposer au niveau des alvéoles (Lauwerys, 1982).

1.5.2. Toxicité du béryllium

La toxicité du Be n'est pas encore totalement comprise. Le Be administré par voie intraveineuse chez l'animal, provoque une nécrose du foie et des reins (Lauwerys, 1982). L'ion béryllium a une grande affinité pour certaines enzymes et inhibe de façon compétitive plusieurs d'entre elles activées par le magnésium ou le manganèse en particulier la phosphatase alcaline, la phosphoglucomutase et la $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase (Aldridge et Thomas, 1966; Toda, 1968). Le Be est cancérigène au niveau des tissus osseux et des poumons chez certains animaux tels que le lapin, le singe et le rat (Dutra et Largent, 1950; Gardener et Helslington, 1946 ; Schepers, 1957). Il pénètre également

dans le noyau des hépatocytes où il inhibe la synthèse de l'ADN (Witschi et Aldridge, 1968).

Le Be est un métal très toxique pour l'humain. Il possède différents mécanismes d'action mais la plupart des signes sont en faveur d'une réaction immuno-allergique. Toutefois ses effets sur la peau et sa toxicité pulmonaire aiguë et chronique le rendent redoutable puisque la béryllose aiguë ou chronique est une maladie incurable pouvant être mortelle. Les manifestations pulmonaires chroniques peuvent apparaître pour des concentrations d'environ $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air (Lauwerys, 1982).

Le Be et ses composés produisent des effets néfastes sur la santé humaine, dont la chronologie est en corrélation avec la durée et la voie d'exposition. Ces effets sont entre autre la béryllose aiguë, la sensibilisation et la béryllose chronique dont les circonstances de survenue et les symptômes respectifs sont décrits ci-dessous.

Une étude menée chez l'humain sur l'autopsie pulmonaire de 124 individus décédés suite à la béryllose chronique, a démontré une infiltration cellulaire et la présence de granulomes dans leurs poumons. Leur aspect et leur présence ont été corrélés avec le pronostic de la maladie (Haley *et al.* 1992).

Bien que beaucoup d'études n'aient pas encore été menées pour mieux caractériser les autres voies d'exposition, la voie respiratoire reste pour le moment, la mieux connue car la plus impliquée dans le processus pathogène de la béryllose; qu'elle soit aiguë ou chronique.

Jusqu'à maintenant, les études animales n'ont pas identifié une dose maximale sans effet nocif observé (DMSENO) sur le système respiratoire (ATSDR, 2002). Quant à la dose minimale entraînant des effets nocifs observés, (DMENO), elle a été établie à $0,55 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Cette valeur est basée sur la sensibilisation au Be chez les travailleurs exposés. Elle représente la valeur médiane des concentrations moyennes de Be en milieu de travail et elle a été ajustée à $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en tenant compte d'une exposition plus longue

que celle en milieu de travail, puis elle a été divisée par un facteur d'incertitude de 10 pour tenir compte de l'utilisation d'une DMENO plutôt que d'une DMSENO (Kreiss *et al.* 1996; INSPQ, 2004; WHO, 2001). Toutefois, les auteurs ne précisent pas comment ils sont arrivés à la valeur de $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

L'exposition du rat et du hamster à des concentrations de $1,8$ à $180 \text{ mg}/\text{m}^3$ de sulfate de Be, pendant 6 à 24 mois a provoqué une incidence de carcinome pulmonaire de 20 à 100 %. Celle-ci est corrélée avec les concentrations de Be, la durée d'exposition et l'âge de l'animal. Différents types de carcinomes ont été observés à l'analyse histologique avec une prédominance d'adénocarcinome chez le rat. L'injection intratrachéale chez cette espèce, de $50 \text{ mg}/\text{kg}$ de chlorure de Be ou de BeO au cours de la gestation a entraîné une augmentation de la mortalité fœtale, un faible poids à la naissance et une augmentation des malformations fœtales internes. Malgré le faible taux de pénétration du Be dans le placenta ($< 0,01 \%$), des modifications sanguines et hépatiques ont été notées chez les rates et leurs fœtus. Aussi, des doses de Be supérieures à $0,3 \mu\text{g}/\text{œuf}$ sont mortelles pour les embryons des poules, tandis que des doses comprises entre $0,03$ et $0,3 \mu\text{g}/\text{œuf}$ provoquent des malformations cardiaques, caudales et de la voûte palatine chez ces embryons (Sharma *et al.* 2002).

Même s'il existe des variations entre différents laboratoires et des résultats quelque peu contradictoires d'études sur l'effet cancérigène du Be, cet effet est prouvé chez l'animal suivant différents modes d'administration et probablement par la voie orale aussi. Ainsi après une exposition unique de rats à 410 - $980 \text{ mg}/\text{m}^3$ d'aérosols de Be métal, 64 % ont développé un cancer du poumon (Nickell-Brady *et al.* 1994). Le taux de cancer du poumon a augmenté chez des rats exposés à $0,035 \text{ mg}/\text{m}^3$ de sulfate de Be par rapport au groupe témoin (Schepers *et al.* 1957). Des rats exposés à la bertrandite n'ont pas montré une incidence élevée de ce type de cancer par rapport au contrôle, tandis qu'une exposition à $0,62 \text{ mg}/\text{m}^3$ de béryl a entraîné chez 18 rats sur 19 des tumeurs broncho-alvéolaires telles que l'adénome, l'adénocarcinome et des tumeurs épidermoïdes. Des rats exposés à $0,006$ - $0,0547 \text{ mg}/\text{m}^3$ d'oxyde de Be, après 9 mois, ont développé un cancer au niveau des bronchioles pulmonaires (Vorwald et Reeves, 1959). Ainsi une étude a montré

que des primates exposés à 0,035 mg/m³ de sulfate de Be, ont développé des tumeurs malignes disséminées partout dans les poumons et même des métastases ont été retrouvées dans les ganglions médiastinaux et à différents endroits dans leurs organismes (Vorwald, 1967; US EPA, 1987).

Chez l'humain le Be est un irritant direct de la peau; il peut entraîner une inflammation cutanée et/ou des yeux. En général la dermite disparaît après l'arrêt de l'exposition. Cependant, une rétention de Be dans des plaies cutanées peut être à l'origine d'ulcérations chroniques pour lesquelles, une exérèse chirurgicale des particules s'avère nécessaire pour obtenir la guérison complète des lésions. En plus de ces ulcérations initiales, la peau peut se sensibiliser et être le siège d'un eczéma de contact. D'autres études ont montré que l'utilisation des prothèses dentaires contenant des alliages de Be peut provoquer la gingivite chronique autour des prothèses (Kotloff *et al.* 1993).

Actuellement, seules des études épidémiologiques ont fait suspecter le Be comme cancérigène chez les personnes exposées (Marchand-Adam et Valeyre, 2005). Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), a classé ce métal comme cancérigène pour l'humain (Groupe 1), en se basant sur des évidences épidémiologiques (IARC, 1993, ATSDR, 2002). Au Québec, le Be est soupçonné cancérigène chez l'humain (classe C2) (INSPQ, 2004). Selon l'Environmental Protection Agency (US EPA), le Be est cancérigène probable (classé B1) (ATSDR, 2002). Cette classification découlerait des preuves limitées chez l'humain mais évidentes chez l'animal (INSPQ, 2004). Dans tous les cas, les effets tératogènes n'ont pas encore été démontrés chez l'humain (INSPQ, 2004; Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

Des recherches réalisées avec des sels solubles de Be tels le chlorure et le sulfate démontrent que ces derniers n'induisent pas la mutation *in vitro* chez le *Salmonella typhimurium* et l'*Escherichia coli*. Néanmoins, le chlorure de Be induit des mutations géniques dans les cellules de hamster chinois en culture, il exacerbe également la fréquence des aberrations chromosomiques et retarde la mitose des cellules rénales de porc. Quant au sulfate de Be, il augmente la survenue des aberrations chromosomiques et

des échanges de chromatides sœurs dans des cellules de hamster syrien. Par contre, *in vitro*, il n'induit pas la synthèse non programmée de l'ADN dans les hépatocytes de rats, ni la recombinaison génétique sur *Saccharomyces cerevisiae*. Ces deux composés de Be entraînent des erreurs dans la réplication de l'ADN sous l'effet de l'enzyme ADN polymérase dans plusieurs systèmes *in vitro*. Différentes expériences ont démontré que ces deux sels produisent des mutations dans les cellules des rongeurs (Kjellstrom et Kennedy, 1984; IARC, 1980; Leonard et Lauwerys, 1987; IARC, 1987). Enfin, de rares cas d'atteinte granulomateuse du système nerveux central ont été rapportés (Solvignon, 1995; Hasan et Kazemi, 1974; Vervloet, 2001).

1.5.3. Physiopathologie

Les particules de béryllium, une fois dans les poumons sont identifiées par les macrophages comme des corps étrangers et sont phagocytées par ces derniers. Ces cellules du système immunitaire, ne pouvant métaboliser le Be, le présentent à leur surface. Ces macrophages sont, à leur tour, identifiés par les lymphocytes et d'autres macrophages comme des corps étrangers. Ils se mettent alors à se multiplier et à libérer des médiateurs de l'inflammation appelés cytokines. L'interaction entre le macrophage, le Be et le lymphocyte, est à l'origine de la différenciation des cellules CD4⁺ mémoires en CD4⁺ effecteurs qui à leur tour, entraînent une diminution de l'expression de CD28 et de la sécrétion de cytokines (Fontenot *et al.* 2003). Aussi, les lymphocytes TCD4 sécrètent l'interleukine 2 (IL2) et l'interféron gama (IFN γ) qui, respectivement, favorisent la prolifération lymphocytaire et la stimulation des macrophages (Tinkle *et al.* 1997; Maier *et al.* 2001). Ces réactions entraînent une réponse inflammatoire généralisée ce qui explique les sueurs nocturnes, la fièvre et la fatigue. Les lymphocytes et d'autres macrophages infiltrent le site de dépôt du Be et poursuivent leur prolifération. Les fibroblastes se multiplient et la fibrose pulmonaire s'installe, aboutissant ainsi à la formation des granulomes. Ce processus entraîne un épaississement interstitiel au niveau des alvéoles, ce qui entraîne une perturbation des échanges gazeux et une diminution de l'élasticité pulmonaire, dès lors le patient ressent de la dyspnée au moindre effort (INSPQ, 2004; Maier *et al.* 2003).

1.6. Effets découlant d'une exposition aiguë

1.6.1. Chez l'humain

Après une exposition brève à de fortes concentrations de Be pouvant atteindre 600 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, des travailleurs peuvent développer une pneumonie chimique d'apparition rapide désignée sous le nom de béryllose aiguë (Zorn *et al.* 1988; Constantinidis, 1978). Les premiers cas de cette maladie ont été rapportés chez des travailleurs des mines d'extraction de Be en République Fédérale d'Allemagne, en Italie, aux États-Unis et en ex URSS. Quelques cas sont apparus comme le résultat d'inhalation des sels de Be solubles, en occurrence le fluorure de Be, à des concentrations souvent supérieures à 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Eisenbud, 1948). Dès 1943 les premiers cas de béryllose aiguë ont été rapportés aux États-Unis sous forme de pneumonie d'apparition brutale. Ces intoxications dues à l'inhalation d'aérosols solides ou liquides, se manifestent par des troubles respiratoires d'importance variable selon le niveau d'exposition. La symptomatologie consiste en une irritation rhino-pharyngée, parfois une trachéo-bronchite accompagnée d'une rhinite, des larmolements, une toux sèche avec une sensation de brûlure retro-sternale, pouvant régresser rapidement après l'arrêt de l'exposition. Les intoxications peuvent également se manifester sous forme d'une broncho-pneumopathie aiguë avec une dyspnée importante et s'accompagner de douleur thoracique et de cyanose, témoin d'une hypoxémie (Middleton, 1998).

Une exposition à un brouillard de composés solubles peut entraîner des troubles oculaires tels que l'œdème des paupières et une conjonctivite avec une photophobie marquée. On note également une atteinte de l'état général telle qu'une fièvre modérée, une asthénie physique et de la sueur nocturne. L'examen médical révèle une polypnée, des râles inspiratoires et une tachycardie. L'image radiologique montre une fibrose diffuse dans les deux poumons avec un aspect micro-nodulaire prédominant aux bases. Histologiquement, les lésions se caractérisent par un œdème interstitiel, des cloisons alvéolaires épaisses avec une infiltration des lymphocytes et des monocytes. Il y a absence de granulomes, ce qui n'est pas un signe spécifique.

En général, la rémission se fait en 3 à 4 mois mais des complications peuvent survenir telles qu'un œdème des poumons ou une fibrose pulmonaire. Des cas mortels ont même été enregistrés dans le passé. Une forme grave de béryllose aiguë peut s'observer pour des expositions à des concentrations de 0,1-0,5 mg/m³ pour les sels solubles (fluorure ou sulfate), et de 1-3 mg/m³ pour l'oxyde très réactif, et de 30 mg/m³ pour l'oxyde peu réactif (IARC, 1980; Clayton et Clayton, 1981; Haguenoer et Furon, 1981; Audran et Falcy, 1982; Kjellstrom et Kennedy, 1984). Cette forme de béryllose peut se solder par la mort du patient mais, si ce dernier survit, la rémission peut être complète (Middleton, 1998). Heureusement, cette forme de béryllose a pratiquement disparu de nos jours, en raison de la disparition des cas d'exposition à de très fortes concentrations (Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

1.6.2. Chez l'animal

La dose létale chez le rat après une inhalation aiguë de 6 heures/jour pendant 5 jours est de 10 mg/m³. Des coupes histologiques montrent une pneumopathie interstitielle s'accompagnant d'une infiltration macrophagique des alvéoles (à polynucléaires neutrophiles) de même qu'une hyperplasie des pneumocytes de type II. Une exposition à une concentration plus élevée soit 800 g/m³, durant 50 minutes, a entraîné une importante pneumonie chimique aiguë suivie d'une pneumonie fibrosante tardive d'évolution chronique (Haley *et al.* 1990). Les aérosols de fluorure de Be seraient plus toxiques et le chien pourrait y être plus sensible (Sendelbach *et al.* 1989).

1.7. Effets découlant d'une exposition chronique

Bien que de nombreuses études aient montré dans le passé qu'il n'y a pas de relation dose-réponse suffisamment solide entre l'exposition au Be et l'incidence de la béryllose chronique, de récents travaux de recherche ont démontré le contraire chez l'animal pour ce qui est de certains composés du Be tels que le fluorure de Be (Kolanitz *et al.* 2001).

Dans une étude menée par Schepers (1957), 115 rats mâles et femelles ont été exposés à 35 g/m³ de sulfate de Be durant 180 jours, 8 heures/jour, 5 jours/semaine. Les poumons des rats euthanasiés présentaient une infiltration de macrophages, une formation épithéliale péri-bronchiolaire et alvéolaire. Parmi ces rats, 52 étaient ensuite maintenus dans un environnement exempt de Be pendant 18 mois. Les altérations pulmonaires ont continué à évoluer et un emphysème est apparu de même qu'une métaplasie de l'épithélium bronchique (Schepers *et al.* 1957). Parmi des singes exposés 6 heures/jour pendant 30 jours à 1 mg/m³ de fluorure de Be ou 2,4 mg/m³ de sulfate de Be, 25 à 50 % sont morts de pneumonie. Des lésions fibrosantes ont été observées dans les poumons de ces animaux de même que des lésions hépatiques et rénales. De plus chez certains rongeurs, l'exposition à l'oxyde de Be (BeO) a entraîné une accumulation pulmonaire de Be et la formation de granulomes épithélioïdes sous la plèvre et autour des bronchioles (INRS, 1992).

1.7.1. Irritation cutanée et sensibilisation

Le diagnostic d'hypersensibilité au Be peut être posé chez une personne n'ayant aucun symptôme et présentant un test de prolifération lymphocytaire (BeLPT) positif, mais des biopsies pulmonaires négatives de même que les radiographies pulmonaires (Newman *et al.* 1992). L'incidence de l'hypersensibilité au Be est difficile à évaluer par un dépistage systématique des travailleurs exposés, mais elle est de l'ordre de 2 à 19 %

(Kriebel *et al.* 1988; Kreiss *et al.* 1989; Eisenbud et Lisson, 1983). Aussi, le mécanisme de passage de la sensibilisation à la béryllose chronique n'est pas encore bien compris. Ainsi, des 99-100% de travailleurs en santé exposés au Be, 1-20% seront sensibilisés et seulement 1-10% développeront la béryllose chronique (Maier *et al.* 2003; Newman *et al.* 2004).

En général l'on pense qu'avant l'apparition des signes précurseurs de la béryllose chronique, une personne doit avoir été sensibilisée ou avoir développé une réaction allergique au Be (WHO, 1990). Ainsi, plusieurs facteurs déterminent le risque de sensibilisation au Be, notamment la dose d'exposition, la taille des particules inhalées, la durée d'exposition et des facteurs individuels (Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

Une fois dans l'organisme, le Be est identifié comme un corps étranger, par les lymphocytes T, notamment les CD4⁺, qui mémorisent l'information. Ces cellules sont alors sensibilisées à ce métal et lors d'une exposition ultérieure, une fois qu'elles ont reconnu les particules de Be, elles prolifèrent en réponse à la présence de ces corps étrangers. L'on présume que les particules de Be se lient aux protéines cellulaires ou aux peptides. Ces substances sont alors reconnues par l'organisme comme des corps étrangers d'où la réaction d'hypersensibilité (WHO, 2001).

La susceptibilité individuelle doit probablement jouer un rôle dans la sensibilisation. Aussi, un contact direct avec des composés solubles de Be peut causer une irritation cutanée et une dermatite de contact caractérisée par des lésions telles que des macules, des papules ou des papulo-vésicules sur les parties exposées (McCord, 1951; NIOSH, 1972). Ces symptômes peuvent se développer une à deux semaines après la première exposition, et s'accompagner d'une conjonctivite. Les éruptions cutanées disparaissent en général après l'arrêt de l'exposition mais, si elle continue, une bronchite et une pneumonie peuvent se développer. Les personnes sensibilisées deviennent plus susceptibles et réagissent plus rapidement à de petites quantités de Be (Van Ordstrand *et al.* 1945).

L'introduction de particules de Be métal dans le tissu sous-cutané du cochon entraîne la formation de granulomes semblables à ceux observés chez l'humain. De même, une hypersensibilité est apparue chez le cobaye après une injection intradermique de soluté de Be (Dutra, 1951; Alekseeva, 1966; IARC, 1980; Clayton et Clayton, 1981; Haguenoer et Furon, 1981; Audran et Falcy, 1982; Kjellstrom et Kennedy, 1984).

Le patch test développé par Curtis en 1951 et utilisé à but diagnostic, s'est rapidement révélé être à l'origine de la sensibilisation de certains individus. Ainsi 8 personnes sur 16 sans exposition préalable connue ont développé un eczéma suite à ce test. Aussi une exacerbation des signes pulmonaires de la béryllose était en rapport avec ce test d'où son interdiction comme test de dépistage (Curtis, 1959; Reeves, 1986).

1.7.2. Béryllose chronique

La sensibilisation est une condition nécessaire mais insuffisante à la survenue d'une béryllose chronique. L'on estime que plus de 50 % des travailleurs exposés ayant développé une sensibilisation, évolueront vers la béryllose chronique (Kreiss *et al.* 1996; Kreiss *et al.* 1997; Saltini *et al.* 2001). Ainsi le taux annuel de passage de la sensibilisation à la béryllose chronique est de 9 à 19 % (Newman *et al.* 1998).

Aux États-Unis, l'on estime que dans les années 1970-1980, le nombre de travailleurs exposés au Be et pouvant potentiellement être sensibilisés ou développer la béryllose chronique, était estimé à 21 000 (McCanlies *et al.* 2003).

La béryllose chronique est une pneumopathie découlant d'une longue exposition à de faibles concentrations de Be et de ses composés. Elle se caractérise par un processus inflammatoire chronique et la formation de granulomes non caséux avec une prédominance de cellules épithéliales et de lymphocytes de même que des macrophages altérés. Elle s'accompagne parfois de signes cutanés, de complications rénales et présente un pronostic sombre.

Elle diffère de la forme aiguë par une période de latence allant de quelques semaines à des dizaines d'années voire 40 ans (Maier *et al.* 2001). Une étude faite sur 30 cas de béryllose chronique a montré que la latence moyenne était de 10,2 ans tandis qu'une autre étude portant sur le registre américain de la béryllose a montré que 55% de 76 cas ont eu une latence supérieure à 10 ans, après la première exposition (Solvignon, 1995; Hasan et Kazemi, 1974). D'autres études ont trouvé une moyenne de latence comprise entre 11-20 ans parmi les cas rapportés dans le Beryllium Case Registry (BCR) (Eisenbud et Lisson, 1983; Maier *et al.* 2001).

La béryllose chronique est actuellement la pathologie la plus sévère induite par le Be et ses composés. Elle survient en général dans le contexte d'une exposition professionnelle dans les industries de haute technologie ou même dans les mines d'extraction des matières premières. Aussi, des expositions à de fortes concentrations augmentent l'incidence de la béryllose, mais il a été démontré qu'un polymorphisme génétique prédisposant semble jouer un rôle important dans la pathogénie de cette maladie en cas d'exposition modérée. Ainsi, des patients atteints de béryllose chronique avaient de l'acide glutamique en position 69 sur les allèles HLA-DPβ1 (HLA-DPβ1-Glu⁶⁹) plutôt que la lysine. (Marchand-Adam et Valeyre, 2005).

La béryllose chronique se caractérise par une apparition progressive des signes. Rarement fulgurante, elle peut être déclenchée par différents facteurs stressants tels qu'une grossesse, une intervention chirurgicale ou une infection (Newman, 1995; Hardy, 1965). Dans certains cas, un pneumothorax peut être révélateur de la maladie (Izumi *et al.* 1976; Newman, 1995). Elle se manifeste d'abord par des signes généraux comme l'amaigrissement, l'anorexie s'accompagnant d'une perte de poids. Par la suite, surviennent les signes pulmonaires caractérisés par une toux persistante, une dyspnée d'effort qui, avec le temps se manifeste même au repos et s'accompagne d'une cyanose avec un retentissement cardiaque secondaire, désigné sous le nom de cœur pulmonaire chronique. Sur le plan radiologique, on peut distinguer trois stades : d'abord une accentuation de la trame pulmonaire, puis une réticulation avec des nodules disséminés dans les deux champs et un élargissement de la région hilare. Enfin, des granulomes

diffus et denses apparaissent, ce qui rappelle l'image classique d'une tempête de neige comme dans le cas de la sarcoïdose, rendant difficile le diagnostic différentiel, si l'exposition au Be est méconnue (Muller-Quernheim *et al.* 1996; Fireman *et al.* 2003; Naccache *et al.* 2003). En effet un nombre inconnu de cas de béryllose chronique souffre d'une erreur diagnostic. L'évolution peut se compliquer d'un grave syndrome d'insuffisance cardio-respiratoire.

Enfin, des cas de granulomes cutanés évoluant vers une ulcération ont été décrits, de même que des complications rénales telles que la formation de granulomes interstitiels, l'hyperuricémie et la lithiase (IARC, 1980; Haguenoer et Furon, 1981; Clayton et Clayton, 1981; Audran et Falcy, 1982; Kjellstrom et Kennedy, 1984). L'examen physique peut révéler une hépato-splénomégalie, des râles inspiratoires comme dans le cas de la forme aiguë, une lymphadénopathie de même que des douleurs articulaires (Middleton, 1998).

1.8. Population à risque

Il faut distinguer 2 catégories de population à risque : celle impliquée dans l'exposition primaire que représentent les travailleurs des industries où l'on manipule le Be et leurs sous-traitants, et celle concernée par une exposition secondaire que représentent généralement les professionnels médicaux, les agents de sécurité et les familles des travailleurs.

La béryllose chronique touche aussi bien les hommes que les femmes. Mais la proportion de femmes atteintes de cette maladie est plus élevée dans le cas de l'exposition non professionnelle où le niveau de Be reste faible. À titre d'exemple, les secrétaires représentent 2 % des travailleurs ayant développé la béryllose chronique. Aussi, certaines épouses de travailleurs auraient également développé cette maladie suite à une contamination à partir des vêtements de leurs maris exposés en milieu de travail (Eisenbud et Lisson, 1983; Kreiss *et al.* 1993; Newman et Kreiss, 1992; Paustenbach *et al.* 2001). De récentes études ont montré une prédisposition des femmes puisqu'elles

représentaient 20 % des cas de béryllose chronique alors qu'elles ne sont que 10 % des travailleurs exposés (Maier *et al.* 2003).

Bien que le risque de la béryllose chronique soit proportionnel à l'intensité et à la durée de l'exposition, il semble qu'une prédisposition génétique soit à l'origine du fait que certaines personnes soient plus à risque que d'autres. Ainsi des études ont démontré chez les patients atteints de béryllose chronique, la présence de l'acide glutamique en position 69 sur les allèles HLA-DP β 1 (HLA-DP β 1-Glu 69), au lieu de la lysine (EPA, 1998; Saltini *et al.* 2001; Rossman *et al.* 2002; INSPQ, 2004; Maier *et al.* 2001; Maier, 2002; Amicosante, 2002). Aussi, les observations de certains chercheurs suggèrent que les travailleurs en contact avec le Be métal, l'oxyde de Be ou les alliages, constituent des groupes à risque. Parmi eux se trouvent les machinistes et les scieurs qui, à eux seuls constituent 12 % des cas de béryllose chronique au Québec (Deubner *et al.* 2001).

II - OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

Malgré de nombreux travaux effectués dans différents pays pour établir des normes visant à mieux protéger les travailleurs, l'on n'est pas parvenu à bout de la problématique liée à l'exposition au béryllium et ses composés. De plus, la découverte récente de plusieurs cas de béryllose chronique a fait réaliser aux scientifiques et aux décideurs que cette problématique est toujours présente même si les accidents connus dans le passé, surtout aux États-Unis, ont pratiquement disparu de nos jours. Aussi, l'Opération béryllium déclenché récemment au Québec, suite à des demandes d'indemnisation de plus en plus croissantes, a permis de découvrir que certaines industries utilisant le Be ne respectent pas la norme fixée par le Department of Energy (DOE) en 1959 soit $2,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ sur 8 heures qui représente la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) et le niveau d'action de $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ proposé par l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (CSST, 2004). Cette norme est d'ailleurs fortement remise en question aujourd'hui puisqu'en réalité elle ne protège pas les travailleurs. Il faut également signaler que même dans les établissements où ces limites d'exposition sont respectées, des cas de sensibilisation et de béryllose chronique ont été découverts (Noranda, 2001). Une des hypothèses avancées pour expliquer cette dernière observation réside dans l'importance de la granulométrie dans la toxicité du Be.

L'objectif spécifique de ce travail vise à évaluer la toxicité du Be métal en fonction de la taille de ses particules. Pour mener à bien cette étude, la méthodologie décrite ci-après a été utilisée.

III - MÉTHODOLOGIE

L'étude a porté sur deux formes physiques du Be métal à savoir, les particules totales de diamètre aérodynamique variable et dont certaines ont une taille supérieure à 5 μm , et les particules fines ou respirables de diamètre $\leq 5 \mu\text{m}$. Pour chacune de ces tailles particulières, la toxicité oro-nasale subaiguë a été évaluée. La poudre de Be métal utilisée (numéro de série 7440-41-7) a été fournie par la compagnie Brush Wellman Inc. (Cleveland Ohio, États-Unis).

Des souris mâles de lignée C3H/HeJ âgées de 9 semaines (*The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME.*) ont été utilisées et ont été exposées à une concentration de 250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Leur poids variait entre 20-30 g. Cette espèce a été choisie car elle constitue l'un des deux modèles animaux qui, pour le moment présentent des réponses immunitaires semblables à l'être humain, (Finch *et al.* 1996, tableau 1). Le tableau suivant illustre ces réponses. Le protocole de la présente expérience était conforme aux règles du Comité institutionnel de protection des animaux (CIPA) de l'Université du Québec à Montréal.

Tableau 1 : Comparaison des réponses à la suite d'une exposition au béryllium chez l'humain et chez deux lignées de souris C3H/HeJ et A/J

Réponses	Humains	Souris
Microgranulomes	+	+
Prolifération lymphocytaire	+	+
Accroissement des cellules T	+	+

Adapté de Finch *et al.* 1996

Au total, l'étude a porté sur 105 souris réparties en 3 groupes de 35 individus. Un groupe a servi de contrôle, le second a été exposé aux particules totales de Be et le dernier, aux particules respirables.

3.1. Exposition par inhalation nasale

Pour chacune des formes physiques de Be, les souris ont été exposées 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 3 semaines (soit 15 jours). Les souris ont été gardées une semaine de plus sans exposition avant d'être, par la suite, euthanasiées, afin de permettre aux effets du Be de se manifester.

L'exposition a été réalisée dans une chambre d'inhalation de capacité 22,8 L (modèle 04-1100; Intox Products, Albuquerque, N. Mex). C'est un système d'exposition muni de 48 hublots pour accueillir 48 rats ou souris, tel que décrit par Raabe *et al.* (1973), pour une exposition par la voie nasale seulement. Ce type de chambre conçue à Lovelace Inhalation Institute d'Albuquerque, New Mexico est le même que celui utilisé par l'équipe de Finch *et al.* (1996), pour ses études sur la toxicologie du Be, il y a quelques années. Dans la présente étude, un générateur de particules a été utilisé (modèle 3400 TSI Inc., St.-Paul, MN). L'air était filtré (HEPA) alors que les particules étaient propulsées et distribuées dans la chambre d'inhalation à un débit total de 22 L/min, avec un total de 60 changements d'air à l'heure. La température et l'humidité ont été quotidiennement mesurées dans la chambre d'inhalation avec respectivement une moyenne de $21,6 \pm 1,1$ et $12,4 \pm 1,7$.

Les particules de Be étant électrostatiques, un neutraliseur de charge électrique pour aérosol a été utilisé (TSI Aerosol Neutraliser, Model 3054) pour réduire cette propriété.

Les concentrations de Be dans la chambre d'inhalation étaient vérifiées de façon continue à l'aide d'un moniteur d'aérosols de marque Dust Track (numéro de série 21288, modèle 8520, TSI Inc., États-Unis). Une double vérification a été réalisée par des prélèvements d'air bihebdomadaires. Le résultat a permis d'apporter les ajustements nécessaires pour maintenir la concentration relativement stable. Une fois par semaine, un impacteur en cascade à 8 étages (série 225 de la compagnie Thermo Fisher Scientific

Franklin Massachusset, USA), a été utilisé pour établir la distribution granulométrique aussi bien pour les particules totales que celles respirables.

Il est à noter que pour le Be respirable, un MOUDI (Micro-orifice Uniform Deposit Impactor) de modèle 100 (MSP Corporation, Minneapolis, Minn) a été utilisé pour déterminer principalement la distribution granulométrique des particules sous microniques. Le filtre de cet appareil de diamètre 37 mm et de porosité 0,8 μm est fait d'ester mixte de cellulose (EMC).

3.2. Caractéristiques des autres substances chimiques

Une semaine après la fin de l'exposition, les souris étaient sacrifiées. Le mélange anesthésique utilisé lors de l'euthanasie des animaux était composé de kétamine, xylazine et d'acépromazine. Les doses respectivement utilisées pour préparer la solution à injecter aux souris sont : 5 ml, 2,5 ml, 1 ml et 1,5 ml de solution saline stérile (0,9/100 ml) obtenus du Centre de distribution de médecine vétérinaire (CDMV) à Saint-Hyacinthe, Québec. Cette solution était conservée à la température de la pièce, à l'abri de la lumière pendant 2 semaines. La dose d'anesthésie reçue par chaque souris était de 0,06 ml.

Aussi la formaline 10% obtenue du laboratoire Fisher a été utilisée pour conserver les poumons de souris destinés à l'histologie.

3.3. Techniques de prélèvement des organes

L'euthanasie des souris s'est déroulée sous une hotte biologique de marque LabGard NU 629-400 (NUAIRE, États-Unis), en procédant à l'injection intrapéritoniale d'une dose de 0,06 ml du mélange anesthésique décrit précédemment. Puis, le sang a été prélevé par exsanguination à l'aide d'une seringue stérile de 1 ml et d'une aiguille de 25G 5/8 héparinée. Par la suite, l'abdomen a été incisé puis la rate a été prélevée de façon stérile et placée dans un épendorf de 1,5 ml contenant 0,5 ml d'une solution de PBS 1X,

puis gardée sur la glace pour être acheminée dans les 2 heures suivant le sacrifice, au laboratoire Meakins Christie de McGill, responsable de l'évaluation des effets associés à l'exposition au Be. Le cœur et les poumons ont été prélevés en sectionnant le péritoine pariétal qui recouvre ces derniers et les ligaments qui les lient au diaphragme. Ces organes ont par la suite été mis dans 6-7 ml de PBS 1X contenu dans des éprouvettes stériles de 50 ml. Pour mener cette opération, le matériel chirurgical a d'abord été stérilisé par autoclave par la suite, en les trempant dans de l'alcool 70 % pendant 15 minutes puis dans une solution de PBS 1X avant qu'ils soient utilisés pour le prélèvement des organes de chaque souris. Enfin le foie et les reins ont été prélevés et acheminés à l'IRSST pour être analysés en vue de déterminer leurs teneurs en Be. Il est à noter que les poumons de certains animaux ont été prélevés pour fin d'analyse chimique (N = 3) alors que les autres (N = 4) l'ont été pour fin d'évaluation histologique.

Une fois l'abdomen et le thorax de la souris ouverts, les vaisseaux abdominaux ont été sectionnés après exsanguination. Ensuite, 2 ml de solution saline 0,9 % ont été injectés dans le cœur, afin d'éviter tout reflux sanguin dans les poumons, ce qui peut affecter la qualité du tissu pulmonaire. Après avoir écarté les glandes salivaires sans les sectionner, la trachée a été dégagée et deux fils de soie 4-0 ont été passés sous celle-ci en faisant des nœuds sans les serrer. La trachée a été sectionnée au 1/3 supérieur et une aiguille y a été introduite puis les nœuds ont été serrés et 0,8 ml de formaline 10 % a été lentement injecté à travers l'aiguille pour bien gonfler les poumons. Après avoir enlevé l'aiguille et bien serré les nœuds sur la trachée, le diaphragme a été sectionné de même que les ligaments le reliant aux poumons. Ces derniers ont été prélevés et mis dans une éprouvette de capacité 50 ml contenant 30 ml de formaline 10 %, le tout conservé sur la glace jusqu'à son acheminement au laboratoire Meakins Christie de McGill, pour y être examinés.

3.4. Évaluation des effets du béryllium

3.4.1. Test de prolifération lymphocytaire au béryllium (BeLPT)

Ce test a été développé en 1970 lorsqu'il a été démontré que des lymphocytes obtenus de patients qui avaient eu des tests cutanés positifs, proliféraient *in vitro* lorsqu'ils étaient en présence de sels de Be (Hanifin *et al.* 1970). Au début, ce test a été nommé *Lymphocyte Transformation Test* (LTT) car l'on croyait que la réaction représentait une transformation maligne.

Vers la fin des années 1980, ce test a été amélioré et renommé *Beryllium Lymphocyte Prolifération Test* (BeLPT). Ainsi, les lymphocytes obtenus du sang périphérique humain sont cultivés *in vitro* et exposés à différentes concentrations d'une solution de sulfate de Be pour stimuler leur prolifération. Des études ont démontré que seuls les sels de Be, dont les concentrations comprises entre 0,1 et 100 μmol et non les sels des autres métaux (utilisés comme témoin), peuvent stimuler la prolifération lymphocytaire. Le sulfate d'aluminium constitue un témoin intéressant dans la mesure où ses propriétés chimiques sont très proches de celles du sulfate de Be et qu'il a été associé à des granulomes inflammatoires chez l'humain (Newman, 1996).

Par la suite, l'utilisation de la thymidine tritiée a permis d'augmenter les performances de ce test. L'incorporation des précurseurs de l'ADN marqués d'un radionucléide a permis le comptage par un appareil de scintillation liquide, modèle 1450 (Microbeta de la compagnie PerkinElmer, USA), du nombre de cellules ainsi marquées, ce qui constitue un indicateur de la prolifération cellulaire. Les résultats sont exprimés en indice de stimulation (SI) obtenu en faisant le rapport de la moyenne des coups par minutes (CPM) avec celle obtenues pour les cellules non-stimulées (cultivées en milieu seul).

Le BeLPT est effectué sur des cellules vivantes avec comme inconvénient la difficulté de les conserver lors du transport vers le laboratoire. C'est pourquoi les échantillons doivent arriver au laboratoire d'analyse dans les 24 heures suivant le prélèvement.

Compte tenu de son caractère peu invasif, le BeLPT a été utilisé comme test de dépistage dans plusieurs études depuis 1986 chez les travailleurs exposés au Be. Au début de cette période, le test servait uniquement à dépister la béryllose chronique. Les résultats étaient très subjectifs et basés sur l'apparence des lymphocytes en culture. La reproductibilité de la méthode était faible et plusieurs personnes avec des tests anormaux avaient des résultats de radiographies pulmonaires et de spirométrie normaux. On les considérait alors comme des faux positifs. Aujourd'hui avec les méthodes de diagnostic plus sophistiquées, on sait que les radiographies pulmonaires et la spirométrie sont des méthodes très sensibles pour confirmer le diagnostic de la béryllose chronique (Kreiss *et al.* 1991).

Néanmoins le BeLPT permet la détection de la sensibilisation. Il est également préconisé comme outil de dépistage de la béryllose chronique car il permet d'identifier les personnes à risque avant même qu'elles ne développent les symptômes de la maladie. Il n'existe cependant aucun test de confirmation de la sensibilisation si ce n'est des BeLPT successifs ou encore la conversion d'une sensibilisation en béryllose chronique.

Ainsi, à la fin de la période d'exposition, les souris ont été évaluées sur le plan immunologique par des BeLPT. Ces tests, habituellement effectués sur le sang périphérique et le liquide de lavage broncho-alvéolaire (BAL), ont été plutôt pratiqués sur les lymphocytes de la rate des souris.

3.4.2. Dissociation des cellules spléniques

Une fois prélevées, les rates ont été immédiatement déposées dans une solution de RPMI 1640. Toute la procédure a été effectuée sous hotte biologique. Les récipients ont

été stérilisés à l'autoclave ainsi que tous les instruments et par la suite, ils étaient trempés dans de l'éthanol 70 % durant 15-30 minutes entre les différentes procédures. Une fois retirés de l'alcool, les instruments étaient rincés dans un bocal rempli de PBS-1X avant d'être utilisés pour la chirurgie des autres souris.

Après l'acheminement des échantillons au laboratoire Meakins Christie, chaque rate a été placée dans une boîte de pétri et sectionnée à l'aide de ciseaux fins et broyé selon la technique utilisée pour les poumons. Puis après l'ajout de 5 ml de RPMI 1640, la solution a été filtrée à l'aide d'un tamis de porosité 70 microns. La boîte de pétri a été rincée plusieurs fois pour s'assurer de collecter toutes les cellules. Cette procédure a été répétée pour chaque rate. Les filtrats ont alors été traités comme suit : après une première centrifugation de 10 min à 1400 rpm, le surnageant a été aspiré. Le culot cellulaire a été resuspendu dans 5 ml de solution tampon de lyse des globules rouges pendant 5 minutes à la température ambiante. Une fois la lyse des hématies terminées, 40 ml de solution de lavage y ont été ajoutés. Les cellules ont alors été lavées comme précédemment, puis resuspendues dans 15 ml de solution RPMI 1640. Par la suite le comptage des cellules a été effectué et la suspension cellulaire a été ajustée à la concentration désirée soit $2,5 \times 10^6$ cellules/ml avant la mise en culture dans des plaques de 96 puits (voir tableau 2), pour le test de BeLPT. À la fin de chaque procédure de dissociation, 50 μ l de Trypan bleu ont été ajoutés à 50 μ l de suspension cellulaire puis le comptage s'est effectué à l'aide d'un hématocymètre au microscope électronique.

Par la suite, le RPMI 1640 complété avec 10% de sérum foetal bovin, de solution tampon HEPES et composé de pyruvate de sodium, de L-glutamine, de pénicilline, de streptomycine et d'eau stérile, puis testé pour l'endotoxine et la culture cellulaire, a été utilisé comme milieu de culture. Cette solution constituait également la solution contrôle dans les puits de cultures à raison de 200 μ l dans chaque puits réservé à cet effet. Les cellules ont été cultivées en présence de 3 différentes concentrations de sulfate de béryllium soit 1, 10 et 100 μ mol, avec un contrôle positif de Concanavalline A (ConA, mitogène reconnu), à raison de 2 μ g/ml. Pour prévenir l'évaporation, les lignes A et H ainsi que les colonnes 1 et 12 ont été remplies d'eau stérile (voir schéma de la plaque de

culture). La culture cellulaire s'est déroulée dans un incubateur à 5% de dioxyde de carbone (CO₂), humidifié à 37°C (N-4750, Water-Jacked, États-Unis), pour une durée totale de 4 jours. Puis au 5^e jour avant la récolte des cellules, 1 µCi de thymidine tritiée (³[H] thy) a été ajouté dans chaque puits. L'incorporation de cette substance radio active a été quantifiée par une récolte automatique dans un compteur beta-scintillation appelé compteur liquide de scintillation, modèle 1450 Microbeta de la compagnie PerkinElmer (USA) effectuant un comptage par minute (CPM) de ³[H] thy. Un exemple de plateau de culture cellulaire est présenté ci-après.

Tableau 2. Exemple de plateau de culture cellulaire

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Bleu	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Bleu	
C		Bleu	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet	Bleu	
D		Bleu	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Bleu	
E		Bleu	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Bleu	
F		Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	
G		Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	
H												

Bleu : Solution de RPMI 1640 Pour le contrôle négatif

Vert : Concanavoline A pour le contrôle positif

Rouge: BeSO₄ 1 µmol

Violet: BeSO₄ 10 µmol

Jaune : BeSO₄ 100 µmol

Blanc : Eau stérile

À la fin de la culture un indice de stimulation a été calculé à partir de la mesure des CPM en faisant le rapport entre la moyenne des CPM des puits exposés et celle des contrôles, en se référant à la spécification de l'U.S. Department of Energy,

DOE-SPEC-1142-2001 (Washington, D.C.). Chez l'humain, un indice de stimulation supérieur à 3 après 2 tests de BeLPT concordants et en l'absence de signes radiologiques et fonctionnels, traduit une sensibilisation du sujet concerné. Dans la présente étude, un indice supérieur ou égal à 3 traduit une sensibilisation des souris.

3.4.3. Histologie pulmonaire

Différentes coupes ont été effectuées sur les poumons puis colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine. Ensuite les coupes histologiques ont été examinées et classées selon le degré d'inflammation, d'infiltration cellulaire, de dépôts de collagène et de fibrose pulmonaire (granulomes) observés. Une comparaison a été effectuée entre les groupes de souris exposées aux deux formes particulières du Be et chacun de ceux-ci a été comparé au groupe contrôle.

Les poumons ont été gardés dans cette solution pendant 24 heures à la température ambiante. Le matériel requis pour l'histologie consiste en trois cassettes bien identifiées et utilisées pour chaque poumon, un récipient servant à séparer les lobes pulmonaires, une paire de ciseaux et une pince sans griffes. La présente technique a été pratiquée sous hotte biologique. Les poumons ont été séparés en lobes gauche et droit et le lobe droit a été séparé en lobes supérieur et inférieur. Chaque lobe a été placé dans une cassette et fermée, ensuite les 3 cassettes ont été placées, pour une durée de 12 heures, dans le processeur de tissu de modèle TP 1020 (Leica, États-Unis). Ces cassettes ont été respectivement trempées (pendant ces 12 heures), dans la formaline 10%, la paraffine, le xylène purs et l'éthanol 70 %. Une fois sortie du processeur, chaque cassette a été plongée dans un bac de paraffine chaude pendant une minute puis placée sur un support où de la paraffine chaude a été coulée dessus jusqu'au remplissage de la cassette. Les cassettes ont par la suite été placées sur une plaque froide pendant une à deux heures, puis conservées à 4°C. Plus tard, les blocs ont été sectionnés en des pièces de 5 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome de modèle RM 2125 RT (Leica, États-Unis). Les coupes ont été mises dans un litre d'eau chaude afin de les séparer, puis elles ont ensuite été placées sur des lames, séchées à l'aide d'une plaque chauffante. Après séchage, elles

ont été mises au four pour une nuit. Le lendemain, les tissus ont été colorés en les plongeant dans une solution d'éosine puis d'hématoxyline et ont fait l'objet d'un examen au microscope électronique de marque Olympus BX51 modèle coolSNA-Procolor (USA).

3.5. Analyse chimique du Be urinaire

Les urines ont été prélevées une semaine avant l'exposition et vers la fin de chaque semaine d'exposition. La collecte des urines couvrait une période de 16 heures environ, allant de la fin d'une journée d'exposition au lendemain matin, pendant laquelle les souris étaient placées par groupes de 2 à 3 individus, dans des cages métaboliques de type Nalgene¹. Ainsi, des pools urinaires ont été formés afin d'obtenir des quantités relativement importantes pour permettre les analyses chimiques. Ces échantillons ont été recueillis dans des contenants en polyéthylène (PE) et conservés à -70°C jusqu'à leur acheminement à l'Institut de recherche en santé sécurité au travail (IRSST), responsable des analyses chimiques. Cet institut participe au contrôle de qualité inter laboratoire de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) (QMEQAS, Sainte-Foy, Québec) et de l'Institute for Occupational, Environmental and Social Medicine (GEQUAS, Erlanger, Allemagne).

Toutes les solutions, les échantillons et les contrôles ont été amenés à la température ambiante avant toute manipulation. Les urines de souris, préalablement congelées à -70°C ont été décongelées et préparées par dilution 1:10 dans de l'acide nitrique 1 % (v/v) et dans des éprouvettes en polypropylène (PP). Tous les étalons et acides de vérification ont été préparés dans des éprouvettes et laissés au repos pour être analysés le lendemain. Avant l'analyse, les échantillons d'urine ont été agités et filtrés en utilisant des filtres à base de fluorure de polyvinylidène (PVDF) de porosité 0,45 µm. Les solutions ont été préparées selon la procédure suivante : les éprouvettes à usage unique de 15 ml ont été identifiées au numéro correspondant à chaque échantillon ou contrôle avec

¹ (Metabolic Cage for Single Mouse, série 650-0315, Nalge Nunc International, New York, États-Unis)

un stylo indélébile. À l'aide d'une pipette de type épendorf, 4 ml de HNO₃ 1 % ont été déposés dans une éprouvette puis 1000 µl d'échantillon d'urine ou de contrôle y ont été ajoutés avec une pipette électrique. Cette solution a été ajustée à un volume de 10 ml par l'ajout à la pipette de 5 ml de HNO₃ 1 %. Les échantillons ont été préparés en duplicata.

La quantité de béryllium présent dans les échantillons a été déterminée en comparant le signal mesuré pour chaque échantillon avec la réponse d'une courbe de calibration. Ces derniers ont été analysés en duplicata et en cas de résultats non concordants, l'analyse a été reprise. À chaque séquence, des contrôles de vérification de l'étalonnage d'échantillon étaient analysés au début et à la fin.

L'ICP-MS représente un apport important en biologie clinique et en toxicologie. C'est un outil puissant pour le dosage de différents métaux dans les matrices biologiques (Nuttall *et al.* 1995). Il offre une technique idéale en toxicologie professionnelle et environnementale pour l'analyse de certains éléments dans les populations de travailleurs exposés ou dans des groupes de populations générales (Dehon *et al.* 2001; White, 1999). Cet appareil a une grande importance en toxicologie clinique et sur le plan médico-légal en cas d'intoxications aiguës. Présentement l'ICP-MS est l'une des techniques d'analyse les plus sensibles pour le dosage individuel d'éléments à l'état de traces de l'ordre de partie par milliard (ppb) dans les médias biologiques (WHO, 1990)

Les analyses ont été réalisées par ICP-MS (PerkinElmerSciex Elan DRCII, Concord, Ontario, Canada). L'instrument est équipé d'un spectromètre de masse de type quadropole muni de cônes en platine, d'une torche standard avec un injecteur en quartz (orifice de 2,0 mm), d'une chambre de nébulisation cyclonique et d'un nébuliseur Meinhard en quartz pour l'introduction des échantillons (Labat *et al.* 2003). Les paramètres instrumentaux sont indiqués dans le Tableau 3 et ont été optimisés pour l'analyse du béryllium.

L'ICP-MS est équipé d'un passeur d'échantillons (PerkinElmer, Wellesley, États-Unis) pour l'automatisation des analyses. Les données ont été enregistrées à l'aide du

logiciel ELAN v.3 (SP2). Tous les échantillons, solutions d'étalonnage, solutions de contrôle, dilués sont acheminés au nébuliseur par une pompe péristaltique. Avant et après l'analyse de chaque échantillon, les tubulures du système sont rincées avec une solution contenant 0,01% de Triton X-100 dans de l'acide nitrique 4% (v/v)

Tableau 3: Paramètres instrumentaux utilisés pour la détermination du béryllium dans l'urine

Puissance de la torche	1300 W
Débit de l'argon pour l'alimentation du plasma	15 L/min
Débit de l'argon auxiliaire	1,2 L/min
Débit de l'argon du nébuliseur	~0,9 L/min
Isotope pour le béryllium	9

Adapté de Labat *et al.* 2003

Tous les réactifs utilisés pour les analyses ont été évalués et choisis pour ne pas contribuer à une contamination possible des solutions de dilution. Le standard interne et ceux des courbes d'étalonnage ont été obtenus de Spex Claritas (NJ, États-Unis). Les solutions de contrôle qualité SCP PlasmaCal ont été obtenues de SCP Science (Baie d'Urfé, Québec). L'acide nitrique (HNO₃ 70 %) a été obtenu de la compagnie Fisher (Montréal, Canada). L'eau utilisée pour la préparation de toutes les solutions est purifiée par un système Milli-Q Element A-10.

3.6. Surveillance de la contamination et de l'exposition humaine

Considérant le potentiel toxique du Be, des mesures de précaution ont été mises en place afin de vérifier les niveaux d'exposition du personnel attitré au laboratoire d'une part, et le niveau de contamination du laboratoire d'autre part. Aussi, des prises de sang ont été effectuées chez les membres de l'équipe devant travailler au laboratoire, avant le début des travaux, pour s'assurer de l'absence d'une sensibilisation préalable. Par la suite, une prise de sang était effectuée chaque mois pour chaque membre de l'équipe afin de détecter la survenue d'une sensibilisation éventuelle.

Par ailleurs, la chambre d'inhalation décrite préalablement est contenue, pour des raisons de sécurité, dans une boîte (cabinet de sécurité) en pression négative. Le générateur de particules, a également été placé dans une boîte à pression négative. Toutes les manipulations ont été effectuées avec le port d'une double paire de gants jetables, de cagoule, d'un système d'adduction d'air muni d'un filtre HEPA 100 et de survêtements appropriés, exclusifs au laboratoire. Aussi, des échantillonnages dans l'air du laboratoire ont été effectués chaque jour pendant toute la durée de l'exposition et, des frottis de surface ont été également pratiqués pour s'assurer de l'absence de contamination du laboratoire. Les analyses de ces échantillons révélaient des concentrations de Be soit en dessous de la limite de détection, soit très faibles.

3.7 Analyses statistiques

Les résultats de la présente étude ont été compilés dans une matrice de données créée dans le logiciel SPSS. Ils ont ensuite été traités à l'aide de ce logiciel et des calculs de fréquences ont été effectués, de même que des statistiques descriptives. L'analyse de variance à un facteur (One-way ANOVA) a été effectuée pour comparer les concentrations urinaires de Be, en utilisant comme facteur les 3 groupes désignant respectivement le groupe contrôle et ceux exposés au Be total et respirable. Le seuil de signification a été établi à 5 %. Aussi des comparaisons multiples avec la méthode de Tukey (test post ANOVA) ont été effectuées pour comparer les groupes deux par deux. Pour les scores d'inflammation pulmonaire, le test de Chi-deux a été réalisé.

IV - RÉSULTATS

4.1 Distribution du béryllium dans la chambre d'inhalation

Le tableau 1 présente la distribution des particules de Be (moyenne \pm écart-type), évaluée à l'aide de l'impacteur en cascades. Les résultats obtenus ont permis d'établir un MMAD de 4,1 μm pour les particules totales et de 1,5 μm pour les particules respirables.

Tableau 1
Diamètres des particules de Be générées dans la chambre d'inhalation
tels qu'évalués à l'aide d'un impacteur en cascades (n = 7)

Point de coupure (μm)	Be total (%)	Be respirable (%)
21,3	10,1 \pm 8,6	4,4 \pm 3,1
14,8	8,0 \pm 3,0	3,5 \pm 1,8
9,8	16,0 \pm 5,0	8,2 \pm 3,3
6,0	21,0 \pm 6,1	14,0 \pm 2,8
3,5	16,4 \pm 3,0	17,4 \pm 8,6
1,55	14,0 \pm 3,8	31,0 \pm 7,3
0,93	4,0 \pm 1,0	7,0 \pm 5,6
0,52	3,0 \pm 1,2	3,1 \pm 1,6
Back up filter	7,5 \pm 3,1	11,4 \pm 4,2

MMAD Be total : 4,1 μm
MMAD Be respirable : 1,5 μm

MMAD : diamètre aérodynamique moyen

Le tableau 2 illustre la distribution des particules de Be (moyenne \pm écart-type), évaluée à l'aide du MOUDI. Les résultats obtenus ont permis d'établir un MMAD de 1,0 μm pour le filtre d'aluminium et de 1,3 μm pour le filtre d'ester mixte de cellulose. Environ 4 à 6 % des particules sont d'ordre nanométrique c'est-à-dire inférieurs à 0,1 μm de diamètre.

Tableau 2
Diamètres des particules de Be respirable générées dans la chambre d'inhalation
tels qu'évalués à l'aide d'un MOUDI (n = 3)

Point de coupure (μm)	MOUDI ¹ (filtres aluminium)	MOUDI ² (filtres cellulose mixte)
9,9	0,2 \pm 0,2	4,4 \pm 2,4
6,2	2 \pm 1,3	11,5 \pm 10,5
3,2	10 \pm 3,3	20,9 \pm 5,8
1,8	37 \pm 9,6	21,8 \pm 6,6
1	19 \pm 3,3	18,5 \pm 7,8
0,55	13 \pm 2,4	10 \pm 3,8
0,33	5 \pm 4,3	5,5 \pm 3
0,18	8 \pm 10,4	3,8 \pm 2,7
0,1	4 \pm 6,0	2 \pm 0,9
0,056	0,2 \pm 0,5	1 \pm 0,5
Back up	0,6 \pm 1,4	0,4 \pm 0,3
Plates	1 \pm 0,4	0,2 \pm 0,3

MMAD¹: 1,0 μm
MMAD²: 1,3 μm
MOUDI : Micro orifice uniform deposit impactor

Les chiffres en gras représentent les particules d'ordre nanométrique.

4.2 Concentrations de béryllium dans la chambre d'inhalation

Le tableau 3 montre que les niveaux d'exposition (moyenne \pm écart-type), auxquels les souris étaient soumises variaient de 256 à 319 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les particules totales, et de 246 à 261 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour les particules respirables. Ces résultats sont satisfaisants car de façon générale, ils correspondent à nos attentes.

Tableau 3
Concentrations moyennes de Be total et respirable ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) dans la chambre d'inhalation pendant les trois semaines d'exposition

	Be total	Be respirable
1 ^{ère} semaine	319 \pm 98	253 \pm 64
2 ^e semaine	281 \pm 53	246 \pm 75
3 ^e semaine	256 \pm 44	261 \pm 72

4.3 Concentrations urinaires de béryllium chez le groupe contrôle et les groupes exposés aux particules totales ou respirables.

Le tableau 4 et la figure 1 (ci-après) présentent les concentrations urinaires de Be (moyenne \pm écart-type), qui varient de 26 nmol/L à 31,6 nmol/L chez le groupe contrôle, de 46,7 nmol/L à 200 nmol/L pour le groupe exposé aux particules totales et de 46,8 nmol/L à 361 nmol/L chez le groupe exposé aux particules respirables.

Tableau 4

Concentrations urinaires moyennes de Be chez les contrôles et les groupes exposés par inhalation au Be total ou respirable (nmol / L)

	1 semaine avant exposition	1 ^{ère} semaine d'exposition	2 ^e semaine d'exposition	3 ^e semaine d'exposition	1 semaine après exposition
Groupe contrôle	31,2 ± 6,8 ³	31,6 ± 4,0	30,4 ± 5,0	26,0 ± 4,7	Non mesurée
Groupe exposé au Be total	46,7 ± 19,5	200,0 ¹ ± 117,1	165,4 ¹ ± 60,1	168,1 ¹ ± 79,3	58,2 ± 25,5
Groupe exposé au Be respirable	46,8 ± 29,4	361 ^{1,2} ± 155,8	341,5 ^{1,2} ± 148,5	262,3 ^{1,2} ± 85,4	60,4 ± 11,0

¹ Significativement différent ($p < 0,05$) du groupe contrôle

² Significativement différent ($p < 0,05$) du groupe exposé au Be total

³ Moyenne ± écart-type

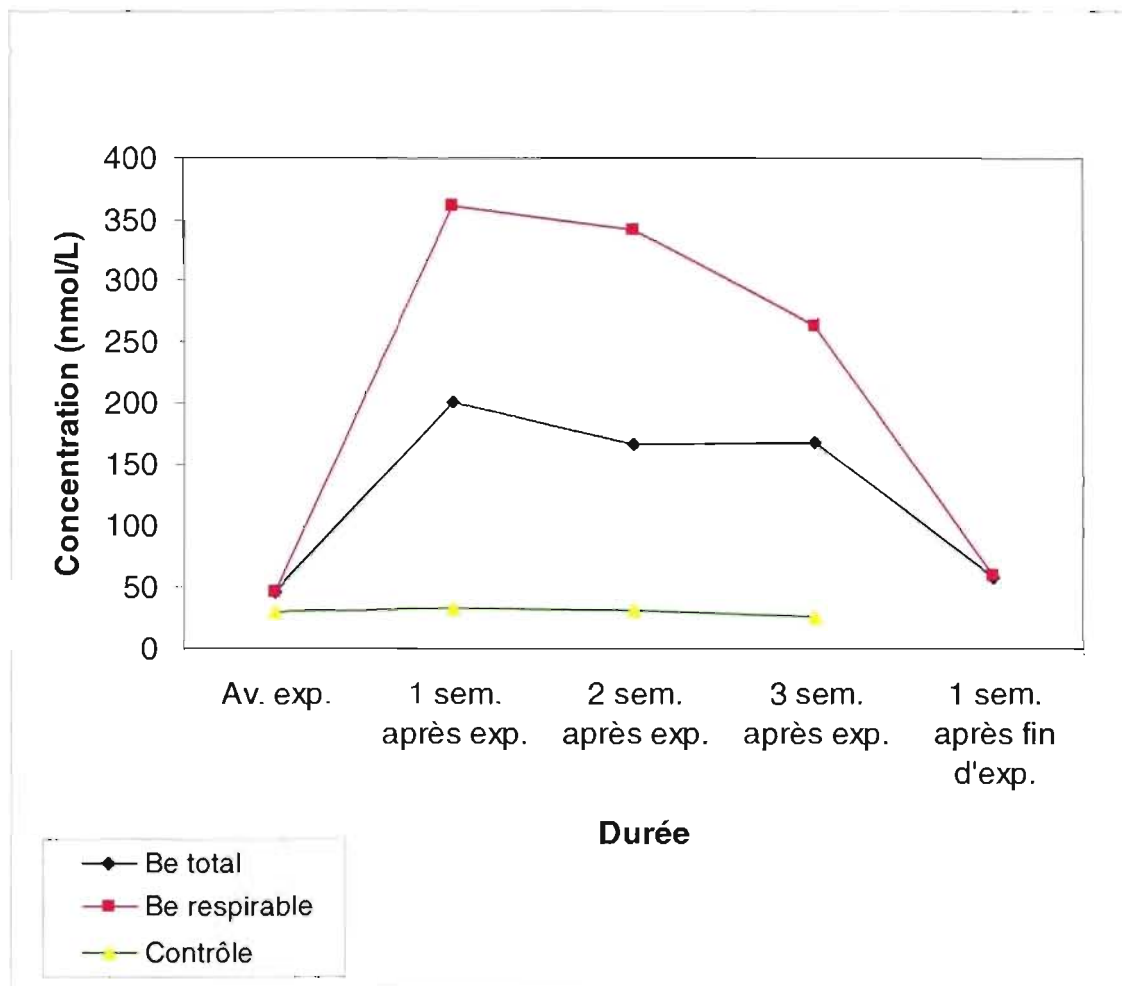


Figure 1. Profil des concentrations urinaires de Be chez les contrôles et les groupes exposés par inhalation au Be total et respirable

Cette courbe nous permet de calculer la demi-vie du Be qui est d'environ 4 jours.

4.4 Test de prolifération lymphocytaire au béryllium (BeLPT)

Le tableau 5 expose les indices de stimulation des lymphocytes au BeSO₄ (moyenne ± écart-type). Ce tableau montre que ce test est négatif aussi chez le groupe contrôle que chez ceux exposés au Be aux particules totales et respirables du Be.

Tableau 5

Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO₄ (1 µmol) dans les 3 groupes

Contrôle	Groupe exposé au Be total	Groupe exposé au Be respirable
0,4	2,56	0,18
0,89	2,17	1,46
0,4	0,78	0,51
0,94	0,52	0,75
1,23	0,71	0,9
0,86	0,66	0,37
1,62	0,48	0,79
	1,06	1,08
	0,98	0,85
	0,89	1,1
	0,79	1,09
	0,68	1,14
	1	1,05
	1,36	0,44
		1,27
		1,52
		1,36
		0,57
		1,27
0,91 ± 0,43	1,05 ± 0,61	0,93 ± 0,38

Les tableaux 6 et 7 illustrent également les indices de stimulation au BeSO₄ (moyenne \pm écart-type), aux concentrations respectives de 10 μ mol et 100 μ mol. Les résultats obtenus sont tous inférieurs à 3, ils sont donc négatifs.

Tableau 6

Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO₄ (10 μ mol) dans les 3 groupes

Contrôle	Groupe exposé au Be total	Groupe exposé au Be respirable
0,51	1,21	0,25
0,48	1,12	2,59
0,51	0,59	0,46
0,91	0,41	0,71
1,13	0,37	0,86
0,8	0,31	1,18
1,14	0,69	0,8
	1,18	0,97
	0,75	1,05
	0,85	1,11
	0,73	0,86
	0,6	1,47
	0,46	0,92
	0,82	0,74
	0,94	1,32
		1,44
		1,13
		0,69
		1,35
		1,05
		0,49
0,78 \pm 0,29	0,74 \pm 0,29	1,02 \pm 0,48

Tableau 7
Indice de stimulation des lymphocytes exposés au BeSO₄ (100 µmol) dans les 3 groupes

Contrôle	Groupe exposé au Be total	Groupe exposé au Be respirable
0,64	0,97	0,23
0,87	0,87	1,45
0,64	0,48	0,58
1,08	0,59	0,64
1,08	0,4	0,93
0,76	0,32	0,54
1,21	0,34	0,58
	0,87	0,82
	0,87	0,7
	0,47	0,85
	0,42	0,89
	0,53	1,38
	0,33	0,71
	0,62	0,65
	0,75	1,26
		1,12
		1,11
		0,57
		1,25
0,90 ± 0,23	0,59 ± 0,22	0,86 ± 0,33

4.5 Histopathologie pulmonaire des souris

Les tableaux 8 et 9 montrent que l'inflammation du tissu pulmonaire était pratiquement absente chez le groupe contrôle, alors qu'elle était plutôt modérée chez le groupe exposé aux particules totales avec un degré d'inflammation moyen de 1,9, et sévère chez le groupe exposé aux particules respirable avec un degré d'inflammation moyen de 2,5.

Tableau 8
Score d'inflammation pulmonaire chez le groupe contrôle et les groupes exposés au
Be total ou respirable

	Groupe contrôle (N = 22)	Groupe exposé au Be total (N = 22)	Groupe exposé au Be respirable (N = 22)
	1	2	3
	1	2	2
	1	1	2
	1	2	3
	1	1	3
	1	2	3
	2	2	3
	1	2	2
	1	2	2
	1	2	3
	1	2	3
	1	2	3
	1	2	2
	1	2	2
	1	2	2
	1	1	2
	1	1	2
	1	2	2
	1	1	2
	1	3	3
	1	2	2
	1	3	3
Score moyen ± écart- type	1,05 ± 0,2	1,9 ± 0,5	2,5 ± 0,5

Score 1 : absence d'inflammation

Score 2 : inflammation légère

Score 3 : inflammation sévère.

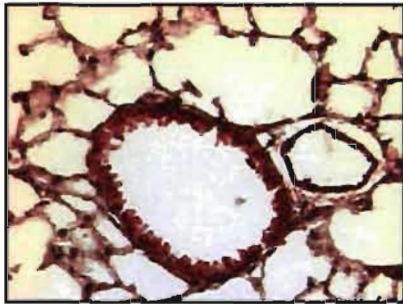
Tableau 9
Comparaison des scores d'inflammation et d'infiltration pulmonaire dans le groupe
contrôle et les groupes exposés au Be total et respirable

		Groupe contrôle	Groupe exposé au Be total	Groupe exposé au Be respirable
Score	1	21 (95,5 %) n = 21	5 ¹ (22,7 %) n = 5	0 ^{1,2} (0 %) n = 0
	2	1 (4,5 %) n = 1	15 ¹ (68,5 %) n = 15	12 ^{1,2} (54,5 %) n = 12
	3	0 (0 %) n = 0	2 ¹ (9,1 %) n = 2	10 ^{1,2} (45,5 %) n = 10

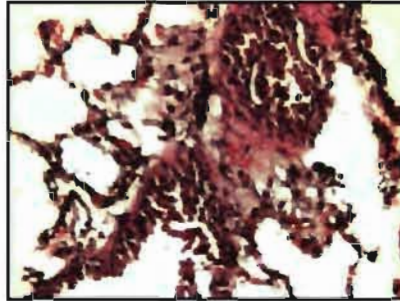
¹ Significativement différent du groupe contrôle ($p < 0,05$)

² Significativement différent du groupe exposé au Be total ($p < 0,05$)

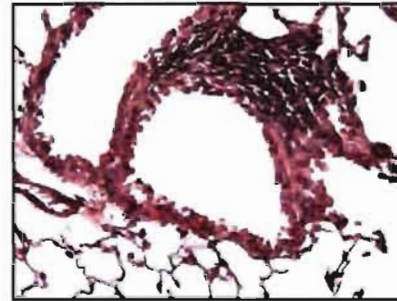
La figure 2 à la page suivante montre qu'il n'y a aucune inflammation pulmonaire chez le groupe contrôle, alors que l'inflammation est modérée chez le groupe exposé aux particules totales avec un score moyen de 2, et elle est sévère chez le groupe exposé aux particules respirables.



Aucune inflammation chez les contrôles



Inflammation légère chez les exposés au BeT



Inflammation sévère chez les exposés au BeR

Figure 2. Coupes histologiques représentatives des poumons du groupe contrôle et des groupes de souris exposées par inhalation au Be total ou respirable

V - DISCUSSION

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer le rôle de la taille des particules dans la toxicité du Be métal chez un modèle animal, la souris de lignée C3H/HeJ. Les travaux de Finch *et al.* (1996) ont suggéré que cette lignée avait des réponses au Be semblables à celles de l'humain. Aussi, ce choix est d'autant plus intéressant que les études de Huang *et al.* (1992) ont montré que cette souche n'était pas susceptible de développer des lésions néoplasiques, renforçant ainsi la probabilité d'atteinte pulmonaire, autre que le cancer.

Ainsi, dans le cadre de la présente étude, une attention particulière a été portée sur la distribution granulométrique dans la chambre d'inhalation sur l'élimination urinaire du Be et les effets de ce métal sur les poumons des souris. Il est à signaler que le poids des souris n'a pas varié de façon significative. Ce poids était en moyenne de $25,4 \text{ g} \pm 1,7$ et de $26,7 \text{ g} \pm 1,9$ avant l'exposition, alors qu'après l'exposition, il était de $26,3 \text{ g} \pm 1,8$ et de $28,2 \text{ g} \pm 2,2$ respectivement pour les groupes exposés aux particules totales et respirables. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés Finch *et al.* (1997) dans leur étude sur des souris femelles C3H/HeJ exposées à des concentrations de Be métal variant entre 18 et 998 mg/m^3 où ils n'ont pas trouvé une différence significative entre le poids avant et après exposition.

5.1. Distribution des particules selon l'impacteur en cascades et le Micro orifice uniform deposit impactor (MOUDI)

Le tableau 1 présente la distribution des particules dans chambre d'inhalation et les MMAD obtenus. Les MMAD calculés dans notre étude ($1,5 \text{ }\mu\text{m}$) pour le Be respirable sont comparables à celui trouvé dans l'étude de Nikula *et al.* (1997) alors qu'il était de $1,4 \text{ }\mu\text{m}$.

Le tableau 2, en plus d'établir le MMAD des particules de Be, montre que 4 à 6 % d'entre elles sont de diamètre nanométrique. Les nanoparticules constituent actuellement un créneau de recherche en pleine croissance qui a déjà conduit à des percées significatives. Aussi, les propriétés toxicologiques liées à ces particules ont fait l'objet de plusieurs études. Quoique fragmentaires en ce qui concerne les divers aspects toxicologiques, de nombreux effets néfastes ont été mesurés, notamment chez l'animal. Ainsi, les nanoparticules insolubles ou peu solubles sont les plus problématiques et plusieurs études ont démontré que l'inhalation de certaines d'entre elles, les amène à se retrouver dans le sang après avoir aisément franchi toutes les barrières de protection respiratoire ou gastro-intestinale, et ainsi se distribuer dans les différents compartiments des organismes vivants. Elles peuvent également cheminer le long des nerfs olfactifs, pénétrer directement dans le cerveau et réussir à traverser les barrières des cellules nerveuses. Enfin, les nanoparticules peuvent se distribuer un peu partout dans l'organisme. Elles présentent donc un intérêt toxicologique grandissant (IRSST, 2006).

5.2. Concentrations urinaires de Be

Dans la présente étude, l'on note une différence significative ($p < 0,05$) entre les concentrations urinaires dans les trois groupes (contrôle, exposés au Be total et exposés au Be respirable) (tableau 4). Cette différence persiste pendant toute la période d'inhalation alors qu'elle est absente avant et après l'exposition, mettant ainsi en évidence qu'en l'absence d'exposition au Be, ces concentrations sont semblables aussi bien chez les contrôles que chez les groupes exposés (voir page 49). La concentration urinaire de Be n'a pas été mesurée à la cinquième semaine (une semaine après l'exposition) mais en voyant la tendance l'on peut présumer que la valeur de la concentration serait autour de 30 nmol/L. Aussi, en comparant les concentrations urinaires hebdomadaires, nous remarquons qu'elles sont statistiquement différentes d'une semaine à l'autre à l'exception des concentrations de la semaine précédant le début de l'exposition et celles obtenues une semaine après la fin de l'exposition.

Ces résultats sont comparables à ceux d'une étude faite auprès de 8 travailleurs exposés accidentellement à 8 ng/m³ de chlorure de Be 4-6 heures/jour pendant 10 jours, qui ont démontré que les concentrations urinaires de Be chez ces individus étaient plus élevées. Elles étaient 4 fois supérieures à celles des personnes non exposées (Stiefel *et al.* 1980). Dans notre étude, l'augmentation chez les groupes exposés au Be total était toutefois de 6 fois supérieure et 11 de fois supérieure chez le groupe exposé aux particules respirables. Des résultats semblables ont été obtenus dans d'autres études faites sur des cobayes et des rats exposés à 2-40 mg/m³ de nitrate de Be pendant 16 heures, au cours de laquelle les concentrations urinaires sont passées à 300 ng/g de Be comparativement à la normale de 2,1 ng/g de Be (Stiefel *et al.* 1980). Mais des résultats contraires ont été trouvés par Apostoli et Schaller (2001) dans leur étude sur des travailleurs exposés à des concentrations médianes de Be dans l'air ambiant variant entre 0,03 et 0,11 µg/m³ où 42 % de ces individus avaient des concentrations urinaires inférieures à la limite de détection. Ces auteurs conclurent qu'il n'y avait pas assez de données pour proposer le dosage du Be urinaire comme indicateur biologique de l'exposition. Dans notre étude, la variation des concentrations urinaires de Be montre une nette démarcation entre la période d'exposition et de non exposition. Ainsi, ces résultats montrent que l'urine représente un indicateur d'exposition par inhalation à tout le moins, quand le niveau d'exposition est relativement élevé.

Pour l'exposition par voie orale, le scénario semble différent. En effet, les résultats trouvés par Reeves (1965) dans son étude sur des rats exposés à des concentrations de sulfate de Be variant de 0,019 à 0,190 mg/kg/jr dans l'eau de boisson, montrent que moins de 0,5 % de ce composé était excrété dans l'urine tandis que 99 % était éliminé dans les matières fécales.

Par ailleurs, nos résultats indiquent que les concentrations urinaires associées à l'exposition au Be total, atteignent leur maximum après la première semaine d'exposition (figure 1). Ce qui laisse croire que la fonction d'élimination semble être saturable. Il est donc possible que le nombre de supports du Be au niveau de la membrane glomérulaire

soit limité comme c'est le cas dans tout système saturable. Dans ce cas, même si le Be est disponible dans le sang qui arrive dans les glomérules, il ne peut passer dans le filtrat qui constitue l'urine primaire faute de supports disponibles pour assurer ce transfert.

Ces résultats divergent de ceux Rhoads et Sanders (1985), selon lesquels des rats exposés par inhalation à l'oxyde de Be présentaient une élimination biphasique. La première phase serait rapide, représenterait 30 % de la charge pulmonaire, avec une demi-vie de 2,5 jours. La deuxième phase (lente) représenterait les 70 % restant avec une demi-vie moyenne de 833 jours. Dans les deux cas on peut déduire que la fonction d'élimination du Be est probablement saturable chez ces animaux.

Dans le sang, le Be se fixe sur la ferritine pour être transporté, jusqu'aux glomérules. Une fois traversé la membrane glomérulaire, il se retrouve à l'état élémentaire dans l'urine. Ainsi, si la liaison à la ferritine est saturable, cela peut expliquer en partie la diminution du Be dans l'urine car même s'il est disponible dans le sang, il ne peut être éliminé rapidement faute de ferritine disponible. L'autre éventualité serait que le Be soit moins absorbé et l'on pourrait le voir en comparant les concentrations sanguines de Be et celles urinaires. Aussi, la courbe de concentration urinaire a permis de calculer la demi-vie du Be qui est d'environ 4 jours.

Compte tenu de la taille des particules, les concentrations urinaires de Be respirable sont plus élevées que celles du Be total. L'on pourrait en déduire que leur absorption serait donc plus importante. Ainsi, elles se retrouvent assez rapidement dans la circulation systémique et se font transporter par la ferritine, protéine qui leur sert de support dans le lit vasculaire pour être distribuées dans tout l'organisme (Maier *et al.* 2003). Les particules de Be total étant moins fines, la fraction de déposition pulmonaire est donc faible et conséquemment l'absorption est moins importante. En effet, la moitié des particules totales ayant une taille supérieure à 5 μm de diamètre, cela veut dire qu'une bonne partie d'entre elles se dépose au niveau des voies respiratoires

supérieures pour être éliminée par la voie digestive, essentiellement par mécanisme mucociliaire.

5.3. Prolifération lymphocytaire

Les résultats de la prolifération lymphocytaire obtenus auprès des 3 groupes de souris ne sont pas significativement différents (tableau 5; 6; 7) et ce, pour les 3 doses de BeSO₄. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Nikula *et al.* (1997) dans leur étude sur deux lignées de souris A/J et C3H/HeJ exposées par inhalation au Be métal pendant 90 minutes à une concentration moyenne de 1,030 mg/m³. Ils ont trouvé un indice de stimulation au BeSO₄ négatif aussi bien pour les lymphocytes sanguins que ceux extraits de la rate. Les résultats de notre étude pourraient également être comparés à ceux d'études faites sur des souris par Huang *et al.* (1992) et Newman (1988) qui ont montré un léger degré de prolifération lymphocytaire *in vitro*. Il est admis que le Be provoque une réponse immunitaire en agissant comme un haptène par combinaison à une molécule de l'organisme qui est perçue comme un antigène. Mais ni l'antigène, ni le mécanisme de reconnaissance du Be n'ont encore été identifiés (Kreiss *et al.* 1994). En plus, l'on ne peut déterminer si l'absence de réponse au test de prolifération lymphocytaire des souris au Be indique une absence de sensibilisation, ou si la réponse *in vitro* des cellules au BeSO₄ requiert un élément *in vivo* qui pourrait être absent dans ce système.

La concentration de BeSO₄ et la durée de culture ont peut-être une influence sur ces résultats puisque l'indice de stimulation est de façon générale inversement proportionnelle à la concentration de BeSO₄. Or, seule une souris du groupe exposé aux particules totales et dont les lymphocytes ont été cultivés en présence de 1 µmol de BeSO₄, présentait un indice de stimulation de 3,52. Ce résultat étant supérieur au seuil de positivité fixé à 3, traduit la sensibilisation de cette souris au Be (tableau 5). Probablement en diminuant davantage les concentrations de BeSO₄ et en cultivant les lymphocytes plus longtemps, l'on pourrait obtenir plus de résultats positifs. La présente étude montre des résultats contraires à ceux trouvés par Cullen *et al.* (1987), dans leur

étude épidémiologique sur la béryllose chronique et ceux trouvés par Williams et Williams (1983) dans leur étude sur la valeur du BeLPT dans la béryllose chronique où ils ont découvert une réponse élevée à ce test chez des patients souffrant de béryllose chronique et une réponse modérée pour certains travailleurs n'ayant pas développé la maladie, suggérant ainsi leur sensibilisation au Be métal. Nous ignorons toutefois quel était le niveau réel de leur exposition (durée et intensité) au Be.

De plus, deux facteurs peuvent expliquer le fait que nos résultats ne soient pas positifs. Premièrement les fortes concentrations de BeSO_4 sont probablement toxiques pour les lymphocytes, les empêchant de proliférer pendant la culture. Ainsi, en utilisant des concentrations plus faibles, cela aurait probablement entraîné une prolifération importante. La deuxième raison est la durée de la culture. Si les cellules étaient maintenues plus longtemps en culture, probablement nos résultats seraient positifs. Ceci pourrait être confirmé si nous avions utilisé un contrôle positif, ce qui n'est pas le cas. Puisque l'on ne sait pas exactement à partir de quel moment commence la prolifération, il se pourrait que la culture soit suspendue au moment même où commençait la prolifération. L'on serait également amené à se demander si les lymphocytes T des souris ont eu le temps nécessaire de développer une mémoire de reconnaissance du Be avant leur euthanasie, pouvant leur permettre de proliférer lors d'un contact ultérieur avec les sels de ce métal, puisqu'aucune étude n'a encore démontré avec certitude, le temps requis pour que les lymphocytes développent une mémoire.

Nos résultats peuvent également être comparés à ceux trouvés par Haley *et al.* (1989) dans leur étude menée sur des chiens exposés au BeO , où ils ont trouvé que le test de prolifération lymphocytaire *in vitro* était sporadiquement positif dans chaque groupe. Ce qui démontre que ces chiens, tout comme les humains, ne réagissent pas de la même manière, mettant ainsi en évidence la variabilité inter-espèces.

Pour raffiner les résultats obtenus au cours de l'étude effectuée sur les chiens, Haley *et al.* (1994) ont exposé des singes par instillation intrabronchiolaire sous bronchoscopie, à des doses de Be comprises entre 0,4 et 38 μg pour le BeO et entre 1,0 et

148 μg pour le Be métal pendant 6 mois, ces quantités ayant globalement le même nombre d'ions Be^{++} dissouts. Une prolifération lymphocytaire a été observée chez les singes gardés pendant 14, 60 et 90 jours après l'exposition pour le groupe exposé au Be métal tandis qu'aucune prolifération n'a été observée chez le groupe exposé au BeO .

5.4. Histopathologie pulmonaire

L'analyse macroscopique des poumons n'a montré aucune anomalie aussi bien chez les contrôles que les groupes exposés au Be total et respirable. Mais, des coupes histologiques effectuées sur les poumons des souris ont montré une différence significative ($p < 0,05$) entre ces groupes, du point de vue de l'infiltration lymphocytaire et de l'inflammation pulmonaire. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Schepers (1964) au cours de son étude menée sur des singes où l'histologie pulmonaire a révélé des infiltrations lymphocytaires et macrophagiques dans le milieu interstitiel alvéolaire, de même que la formation de fibrose.

Les deux groupes exposés sont aussi significativement différents ($p < 0,05$) l'un de l'autre. Ainsi, il n'y a pas eu d'inflammation pulmonaire dans le groupe contrôle (score moyen $1,05 \pm 0,2$), à l'exception d'une souris qui présentait un score de 2 pouvant s'expliquer par le fait que l'animal ait pu être atteint d'une zoonose quelconque sans qu'il présente des signes cliniques nécessitant l'intervention du vétérinaire. Chez le groupe exposé aux particules totales, ce score avoisine 2 ($1,9 \pm 0,5$), ce qui traduit une inflammation modérée et, il est de $2,5 \pm 0,5$ pour le groupe exposé au Be respirable. Ces lésions se caractérisent par une infiltration de macrophages et de lymphocytes dans le milieu interstitiel et se localisent au niveau du parenchyme pulmonaire que constituent les bronchioles et les alvéoles. Ces modifications constituent des précurseurs dans le processus de formation des granulomes qui sont des structures fibreuses non caséuses que l'on retrouve dans les poumons des personnes atteintes de béryllose chronique et dans d'autres maladies granulomateuses telles que la sarcoïdose. Il est probable qu'en gardant les souris plus longtemps après leur exposition, même dans un environnement

exempt de Be, des granulomes auraient pu se former. En effet, dans une étude (Schepers, 1964) où des singes femelles ont été exposés par inhalation à des aérosols de fluorure de Be pendant 7 jours à la concentration de 5,2 gamma/ft³ de Be, puis gardés pendant 28 jours sans exposition, l'histopathologie pulmonaire a montré une inflammation caractérisée par une infiltration des macrophages et des lymphocytes dans la région septale alvéolaire allant jusqu'à la formation de granulomes. Aussi, Nikula *et al.* (1997) dans leur étude où deux lignées de souris A/J et C3H/HeJ ont été exposées pendant 90 minutes à 1,030 mg/m³ de Be métal puis gardées pendant 6 mois avant d'être euthanasiées, ont trouvé qu'il y avait formation de granulomes au niveau du tissu pulmonaire des deux lignées.

La formation de granulomes est due à un processus inflammatoire chronique provoqué par la présence des particules de Be dans les poumons. Même en l'absence d'exposition, ces particules sont continuellement recyclées dans les tissus pulmonaires par les macrophages. Ainsi, l'inflammation se poursuit et l'organisme, dans sa défense immunitaire, produit du tissu collagène qui forme avec les macrophages, les monocytes et les lymphocytes, ces structures non caséuses que sont les granulomes (Maier, 2003). Ainsi, Haley *et al.* (1989) dans leur étude sur les chiens, ont trouvé qu'en gardant les animaux pendant une année après leur exposition au BeO, l'analyse histopathologique montrait une hyperplasie des macrophages, la formation de granulomes et de fibrose, de même qu'une hyperplasie de l'épithélium alvéolaire et une infiltration des lymphocytes.

5.5. Extrapolation de la valeur d'exposition chez l'humain

Puisqu'aucune concentration de Be inférieure à 250 µg/m³ n'a été utilisée dans cette étude, et considérant que cette concentration provoque une infiltration des lymphocytes dans le milieu interstitiel alvéolaire alors qu'il y a absence de formation de granulomes, nous avons considéré que ces effets constituaient le début de la formation de granulomes. Ainsi, la concentration de 250 µg/m³ représenterait donc une valeur de

DMSENO. Il est alors possible de dériver cette concentration afin de trouver une valeur seuil d'exposition chez les travailleurs pour une durée de 8 heures.

Pour ce faire, plusieurs facteurs de sécurité doivent être appliqués. Dans un premier temps, l'étude étant menée chez l'animal, un facteur d'incertitude de 10 doit être appliqué à la concentration d'exposition pour considérer l'extrapolation des données à l'humain. De plus, considérant la durée sub-chronique de l'étude, un autre facteur de 10 doit être appliqué. Aussi, pour tenir compte de la variabilité inter individuelle, car tous les individus ne réagissent pas de la même façon, un autre facteur de 10 doit être appliqué. Enfin, un dernier facteur de 10 doit être appliqué pour passer du DMENO au DMSENO (la dose la plus élevée sans effet nocif observé). Ainsi la concentration de 250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ doit être divisée incidemment, par un facteur de 10 000 et l'on obtient alors la valeur de 0,025 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ soit 0,02 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Cette valeur seuil correspond à celle proposée par l'ACGIH (2007) pour les particules inhalables ($< 100 \mu\text{m}$ de diamètre).

VI - CONCLUSION

L'objectif de notre étude était d'évaluer la toxicité du Be métal en fonction de la taille des particules. Ainsi, trois groupes de souris mâles de lignée C3H/HeJ ont été utilisés, dont un groupe contrôle et deux groupes exposés aux particules totales ou respirables.

Les résultats obtenus sont significativement différents ($p < 0,05$) en ce qui concerne les concentrations urinaires et les effets pulmonaires, entre les trois groupes. Quant au test de prolifération lymphocytaire, les résultats ne nous permettent pas de tirer des conclusions claires.

Cette étude a pu également démontrer que l'urine peut être considérée comme un biomarqueur d'exposition à tout le moins, quand les niveaux d'exposition sont relativement élevés. De même, elle a démontré que le processus inflammatoire pulmonaire se développe assez précocement contrairement à la prolifération lymphocytaire. Aussi, les résultats ont permis de considérer le niveau d'exposition de $250 \mu\text{g}/\text{m}^3$ auquel les souris ont été exposées comme un DMENO. Il a donc été possible de dériver une valeur seuil à laquelle les travailleurs peuvent être exposés. En utilisant des facteurs d'incertitude standard pour dériver une valeur pour l'humain ($\text{FI} = 10\ 000$), nous obtiendrions un seuil de $0,025 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Si cette étude devait être poursuivie, il serait intéressant d'allonger la durée d'exposition des souris et une fois celle-ci terminée, allonger également le temps post exposition de quelques semaines avant le sacrifice, pour accroître le niveau d'inflammation pulmonaire pouvant probablement aboutir à la formation de granulomes dans les poumons.

Il serait également recommandé de prolonger le temps de culture des lymphocytes afin de vérifier si cela permettrait d'avoir un résultat positif du test de prolifération. Aussi, la culture cellulaire devrait se faire avec des concentrations de sels de Be plus

faibles pour voir si celles utilisées dans notre étude étaient trop élevées au point d'être toxiques pour les cellules, les empêchant ainsi de proliférer.

Enfin, il serait intéressant d'entreprendre des études avec des nanoparticules de Be afin de mieux comprendre leurs effets spécifiques comparativement aux particules respirables ou inhalables.

VII - RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agency for Toxic Substances Disease Registry (ATSDR), 2002. Toxicological profile for beryllium.

Aldridge, W. N., Thomas, M. 1966. The inhibition of phosphoglucomutase by beryllium. *Biochem. J.*, 98, 100

Alekseeva, O. G. 1966. Ability of beryllium compounds to cause allergy of the delayed type. *Fed. Proc. (Trans. Suppl.)*, 25: 843-846.

American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), 2007. Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices.

American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), 2005. Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices.

Apostoli P., Schaller, K. 2001. Urinary beryllium-a suitable tool for assessing occupational and environmental beryllium exposure? *Int arch Occup Environ Health*; 74: 162-6

Audran, R., Falcy, M. 1982. Béryllium (ou Glucinium). Bore et dérivés. Paris, *Encyclopédie médico-chirurgicale. Intoxications, fascicule 16002 B¹⁰*, 12.

Balkissoon, R. C., Newman, L. S. 1999. Beryllium copper alloy (2 %) causes chronic beryllium disease. *J Occup Environ Med* 41 (4): 304-308

Bastarache, E. 2000. La silice, la silicose et la céramique.

- Bencko, V., Brezina, M., Benes, B., *et al.* 1979. Penetration of beryllium through the placenta and its distribution in mouse. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 23: 361-367
- Bruce, R. M. et Odin, M. 2001. Beryllium and beryllium compounds. Concise international chemical assessment document (CICAD), no. 32, Geneva, Organisation mondiale de la santé: 75.
- Clary, J. J., Bland L. S., Stokinger H. E. 1975. The effect of reproduction and lactation on the onset of latent chronic beryllium disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 33: 214-221.
- Clayton, G. D., Clayton, F. E. 1981. Patty's industrial hygiene and toxicology, 3^e éd., vol. IIA. New York, John Wiley and sons, pp 1537-1558
- Commission de la santé et sécurité du travail (CSST) 2004. Opération béryllium : Activités dans les établissements du secteur de l'aéronautique et dans des établissements d'usinage de pièces aéronautiques.
- Constantinidis, K. 1978. Acute and chronic beryllium disease. *Br J Clin Pract*; 32: 127-36, 53.
- Cullen, M. R. 1986. Chronic beryllium disease in the United States. *Seminars in respiratory medicine* 7(3): 203-209.
- Cullen, M. R., Kominsky, J. R., Rossman, M. D., cherniack, M. G., Ranklin, J. A., Balmes, J. R., Kern, J. A., Danielle, R. P., Palmer, L., Naegel, G. P., McManus, K., and Cruz, R. 1987. Chronic beryllium disease in a precious metal refinery: Clinical epidemiologic and immunologic evidence for continuing risk from exposure to low level beryllium fumes. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135, 201-202

- Curtis, G. H. 1959. The diagnosis of beryllium disease with special reference to the Patch Test. *Arch Indus Health* 19: 150-153.
- Dehon, B., Nisse, C., Lhermitte, M., Haguenoer, J. M. 2001. Métaux et médecine du travail. *Am. Toxicol. Anal*; 13: 203-19.
- Deubner, D., Kelsh, M., Shum., Maier, L. Kent, M., and Lau, E. 2001. Beryllium sensitization, chronic beryllium disease, and exposures at a beryllium mining and extraction facility. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 16 (5) : 579-592.
- Dion, C., Perrault, G. 2003. Nettoyage et décontamination des lieux de travail où il y a présence de béryllium, synthèse des bonnes pratiques.
- Dutra, F. R. 1951. Experimental beryllium granulomas of the skin. *Arch. Ind. Hyg Occup. Med.* 3: 81-89.
- Dutra, F. R., Largent, E. J. 1950. Osteosarcoma induced by beryllium oxide. *Am. J. Pathol.*, 26, 197.
- Eisenbud, M. 1998. The standard for control of chronic beryllium disease. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 13 (1) January: 27-31
- Eisenbud, M., and Lisson, J. 1983. Epidemiological aspects of beryllium-induced non-malignant lung disease: A 30-year update. *J. Occup. Med.* 25, 196-202
- Eisenbud, M., Wanta, C., Dustan, L. T. *et al.* 1949. Non-occupational berylliosis. *J Ind Hyg Toxicol* 31: 282-294.
- Emond, C., Robin, J-P., Breton, Robert, Philippe, S., Zayed, J., 2007. Dermal exposure to beryllium: A Pilot Case Study.

- Fields, S. 2001. Toxic beryllium: new solutions for a chronic problem. *Environ Health Perspect* 109(2): A74-9.
- Finch, G. L., Newhinney, J. A., Hoover, M. D. *et al.* 1990. Clearance, translocation, and excretion of beryllium following acute inhalation of beryllium oxide by beagle dogs. *Fundam Appl Toxicol* 15: 231-241.
- Finch, G. L., Mewhinney, J. A., Hoover, M. D., Eidson, S. F., Haley, P. J., Bice, D. E. 1986. Toxicokinetics of beryllium following acute inhalation of BeO by beagle dogs. pp 146-153.
- Fireman, E., Haimsky, E., Noiderfer, M., Priel, I., Lerman, Y. 2003. Misdiagnosis of sarcoidosis in patients with chronic beryllium disease. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*; 20: 144-8
- Fontenot, A.P., Ghavari, L., Bennett, S.R., Canavera S.J., Newman L. S., Ktzin B.L. : CD28 costimulation independence of target organ versus circulating memory antigen-specific CD4+ T cells. *J Clin Invest* 2003; 112: 776-84.
- Furchner, J., Richmond, C., London, J. 1973. Comparative metabolism of radionuclides in mammals: VII. Retention of beryllium in the mouse, rat, monkey and dog. *Health phys*; 24: 292-300
- Gardener, L. U., Helslington, H. F. 1946. Osteosarcoma from intravenous beryllium compounds in rabbits. *Proc. Am Soc. Exp. Biol.*, 30th annual meeting, 5, 221.
- Gordon, T., Bowser, D. 2003. Beryllium: genotoxicity and carcinogenicity
- Gouvernement du Québec 2006. Règlement modifiant le Règlement sur la santé et la sécurité du travail. *Gazette officielle du Québec, Partie 2* 138(51) :5793-5799, 20 décembre 2006.

- Groetenbriel, C., Van Ganse, W., Oleffe, J. 1970. A propos d'un cas d'intoxication chronique au béryllium: considérations pathogéniques et valeur du «patch-test» pour le diagnostic. *Acta Tubercul. Et pneumol. Belgica*, 61, 363.
- Haguenoer, J. M., Furon, D. 1981. Toxicologie et hygiène industrielles. Les dérivés minéraux, vol. 1. Paris, Technique et documentation, pp 103-129.
- Haley, P., Finch, G. L., Mewwhinney, J. A. *et al.* 1989. A canine model of beryllium-induced granulomatous lung disease. *Lab Invest* 61:219-227.
- Haley, P., Pavia, K. F., Swafford, D. S., *et al.* 1994. The comparative pulmonary toxicity of beryllium metal and beryllium oxide in cynomolgus monkey. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 16(4): 627-644.
- Hardy, H. L.: beryllium poisoning-lessons in control of man-made disease. *N Engl J Med* 1965; 273: 1188-99.
- Hardy, H. L., Tabershaw, I. R. 1946. Delayed chemical pneumonitis occurring in workers exposed to beryllium compounds. *J Indus Hyg Toxicol* 28:197.
- Hart, B. A., Harmsen A. G., Low, R. B. *et al.* 1984. Biochemical, cytological and histological alterations in rat lung following acute beryllium aerosol exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 75:454-465
- Hart, B. A., Pittman, D. G. 1980. The uptake of beryllium by the alveolar macrophage. *J Reticuloendothel Soc*; 27: 49-58.
- Hasan F.M., Kazemi, H.: Chronic beryllium disease : a continuing epidemiologic hazard. *Chest* 1974; 65: 289-93

- Hasan F. M., Kazemi, H. 1973. Progress report. U.S. beryllium Case registry, 1972. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 108, 1252, 1973.
- Henneberger, P. K., Goe, S. K., Miller, W. E., Doney, B., Groce, D. W. 2004. Industries in the United States with airborne beryllium exposure and estimates of number of current workers potentially exposed.
- Henneberger, P. K., Cumro, D., Deubner, DD, Kent, MS, MacCawley, M., and Kreiss, K. 2001. Beryllium sensitization and disease among long-term and short-term workwers in beryllium ceramics plant. *Int. Occup. Environ. Health*. 74: 167-176.
- Hoover, M. D., Castorina, B. T., Finch, G. L., Rothenberg, S. J. 1989. Determination of the oxide layer thickness on beryllium metal particles. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 50, 550-553.
- Huang, H., Meyer, K. C., Kubai, L. and Auerbach, R. 1992. An immune model of beryllium-induced pulmonary granuloma in mice: Histopathology, immune reactivity, and flow-cytometric analysis of bronchoalveolar lavage-derived cells. *Lab. Invest.* 67, 138-146
- IARC 1993. Beryllium, Cadmium, Mercury, and exposures in the Glass Manufacturing Industry, Vol. 58. IARC, Lyon, France
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1980. Monographs on the Evaluation of the carcinogenic Risk of chemicals to humans, vol. 23, some metals and metallic compounds, Lyon, p. 143-204.
- International Commission on Radiological Protection (ICRP), 1960. Report of ICRP Committee II on permissible dose for Internal Radiation. *Health Phys.* 3: 154-155.

Institut national de recherche scientifique (INRS), 1992. Béryllium et ses composés minéraux, Fiche toxicologique no 92. Paris, Institut national de recherche et de sécurité, 6 p.

Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), 2004. Le test de prolifération lymphocytaire au béryllium (BeLPT) de la théorie à la pratique

Institut de recherche Robert Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST) 2006. Les effets à la santé reliés aux nanoparticules

Izmerov, N. F. 1985. Ecological soil screening levels for beryllium.

Izumi, T. Kobara, Y., Inui, S., Tokunaga, R., Orita, Y. Kitano, M., Williams W. J. 1976. The first seven cases of chronic beryllium disease in ceramic factory workers in Japan. *Annals N.Y. Acad Sci.*, 278, 636

Johnson, J. S., Foote, K., McClean, M., Cogbill, G. 2001. Beryllium Exposure Control Program at the Cardiff Atomic Weapons Establishment in the United Kingdom. *Appl Occup Environ Hyg*; 16:619-30

Kent, M.S., Robins, T.G., and Madl, A.K. 2001. Is total mass of alveolar-deposit airborne particles of beryllium a better predictor of the prevalence of disease? A preliminary study of a beryllium processing facility. *App. Occup. Environ. Hyg.* 16: 539-558.

Kjellstrom, T. Kennedy, P. 1984. Criteria document for Swedish occupational standards.

Klaassen, C. D., Casarett and Doull's, 2001. Toxicology. The basic science of poisons

Kolanz, M.E. 2001. Introduction to beryllium: uses, regulatory history, and disease. *Appl Occup Environ Hyg* 16 (5): 559-67

- Kolanz, M. E., Madl, A. K., Kelsh, M. A. *et al.* 2001. A Comparison and Critique Historical and Current Exposure Assessment Methods for beryllium. Implications for Evaluating Risk of Chronic Beryllium Disease. *App. Occup Environ Hyg.*
- Kotloff, R. M., Richman P. S., Greenacre J. K., Rossman M. D. 1993. Chronic beryllium disease in a dental laboratory technician. *Am Rev Respir Dis* 147 (1): 205-7
- Kreiss, K., Mroz M. M., Zhen B., Wiedmann H., Barna B. 1997. Risks of beryllium disease related to work processes at a metal, alloy, and oxide production plant. *Occup. Environ. Med.* 54 (8): 605-12
- Kreiss, K., Mroz, M. M., Newman, L. S., Martyny, J., and Zhen B. 1996. Machining risk of beryllium disease and sensitization with median exposure below 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. *Am. J. Ind. Med.* 30, 16-25
- Kreiss, K., Mroz M. M., Zhen B, Martyny J. W., Newman L. S. 1993a. Epidemiology of beryllium sensitization and disease in nuclear workers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 148: 985-91.
- Kreiss, K., Newman L. S., Mroz M. M., Campbell P. A. 1989. Screening blood test identifies subclinical beryllium disease. *J. Occup. Med* 31 (7): 603-8.
- Kriebel, D., Sprince N. L., Eisen E. A., Greaves I. A. 1988. Pulmonary function in beryllium workers: assessment of exposure. *Br. J. Ind. Med.* 45 (2): 83-92,.
- Kuznetsov, A. V., Matveer, O. G., Suntsoc, G. D. 1974. Differences in the distribution of labelled beryllium chloride with or without carrier in rats following intratracheal administration. *Gig. i Sanit.* 10: 113-114.
- Labat L., Dehon B., Dhorne C., Lhermitte M. 2003. Dosage de métaux par ICP-MS dans différents milieux biologiques.

- Lauwerys, R. 1982. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles.
- LeFevre, M. E., Joel, D. D. 1986. Distribution of label after intragastric administration of ⁷Be-labeled carbon to weanling and aged mice. Proc Soc Exp Biol Med 182: 112-119.
- Leonard, A., Lauwerys, R. 1987. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of beryllium. Mutat Res 186: 35-42
- Lipmann, M., Albert, R. E., Peterson Jr H. T. 1970. The regional deposition of inhaled aerosols in man. In: Inhaled particles III, vol. 1, Walton W. H. Ed p. 105
- Maier, L. A., McGrath, D. S., Sato, H., Lympany, P. Welsh K., Du Bois R. Silveira L., Fontanot A. P., Sauwyer R. T., Wilcox E., Newman L. S. 2003. Influence of MHC CLASS II in susceptibility to beryllium sensitization and chronic beryllium disease. J Immunol 171:6910-8.
- Maier L. A. 2001. Beryllium health effects in the era of the beryllium lymphocyte proliferation test. Appl Occup Environ Hyg 16: 514-20
- Marchand-Adam, S. et Valeyre, D. 2005. Bérylliose pulmonaire chronique : un modèle d'interaction entre environnement et prédisposition génétique (1^{ère} partie). Minéralogie, toxicologie, épidémiologie et facteurs de risque.
- Marchand-Adam, S., Guillon, F., Brauner, M., Valeyre, D. 2005. Bérylliose pulmonaire chronique (2^e partie). Pathogénie, expression clinique, prévention et législation.
- McCanlies, E. C., Kreiss, K. Andrew M., Weston A. 2003. HLA-DPB1 and chronic beryllium disease: A HuGE Review. Am. J. Epidemiol. 157(5): 388-98.

- McCord, C. P. 1951. Beryllium as a sensitizing agent. *Ind. Med. Surg.* 20: 336.
- Morgareidde, K., Cox C. E., Bailey D. E. 1975. Chronic feeding studies with beryllium sulfate in rats: Evaluation of carcinogenic potential. Submitted to Alcan Research and developpemnt, Ltd.by Food and Drug research Laboratories, Inc.
- Middleton, D. C. 1998. Chronic beryllium disease: Uncommon disease, less common diagnosis.
- Muller-Quernheim, J., Zissel, G., Schopf R., Vollmer, E., Schlaak, M. 1996. Differential diagnosis of berylliosis/sarcoidosis in a dental technician. *Dtsch Med Wochenschr*; 121: 1462-6
- Naccache, J. M., Marchand-Adam, S., kambouchner, M., Guillon, F., Monnet, I., Girard, F. Brauner M., Valeyre D. 2003. Ground-glass computed tomography pattern in chronic beryllium disease: pathologic subatratum and evolution. *J. Comput Assist. Tomogr*; 27: 496-500.
- National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 1972. Criteria for a recommended standard: Occupational exposure to beryllium. Pub No 72-10268
- Newman, L. S., Balkisoon, R., Daniloff, E. *et al.* 1998. Rate of Progression from beryllium sensitization to chronic beryllium disease is 9-19 % per year. *Am J Resp Crit Care Med* 157: A145.
- Newman, L. S., Mroz, M. M., Balkisoon, R., Maier, L. A. 2004. Beryllium sensitization progress to chronic beryllium disease. A longitudinal study of disease risk
- Newman, L. S., Kreiss K: Nonoccupational beryllium disease masquerading as sarcoidosis: identification by blood lymphocyte proliferative response to beryllium. *Am rev Respir Dis* 1992; 145: 1212-4

- Nickell-Brady, C. Hahn, F. F., Finch G. L., Belinsky S. A. 1994. Analysis of K-ras, p53 and c-raf-1 mutations in beryllium-induced rat lung tumors. *Carcinogenesis* 15(2): 257-62
- Nikula, K. J., Swafford D. S., Hoover M. D. *et al.* 1997. Chronic granulomatous pneumonia and lymphocytic responses induced by beryllium metal in A/J and C3H/HeJ mice. *Toxicol Pathol* 25(1): 2-12.
- Nuttall, K. L., Gordon, W. H., Ash, K. O. Inductively coupled plasma mass spectrometry for trace element analysis in the clinical laboratory. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1995; 25: 264-71
- Paustenbach, D. J., Madl, A. K., Greene J. F. 2001. Identifying an appropriate occupational exposure limit (OEL) for beryllium: Data gaps and current research initiatives. *Appl Occup Environ Hyg* 16(5):527-538.
- Petzow, G., Zorn, H. 1974. Toxicology of beryllium-containing substances. *Chem Ztg* 98:236-241. (German)
- Reeves, A. L., Friberg, L., Nordberg, G. F., Vouk, V. B. 1986. Beryllium in: *Handbook on the toxicology of metals*. Second edition. Volume II: Specific metals. New York: Elsevier Science Publishers, 95-116.
- Reeves, A. L. 1965. The absorption of beryllium from the gastrointestinal tract. *Arch Environ Health* 11(2): 209-14
- Rhoads, K., Sanders, C. L. 1985. Lung clearance, translocation, and acute toxicity of arsenic, beryllium, cadmium cobalt, lead, selenium, vanadium, and ytterbium oxides following deposition in rat lung. *Environ Res*: 36:359-78

Richeldi, L., Sorrentino R., Saltini C. 1993. HLA-DPB1 glutamate 69: a genetic marker of beryllium disease. *Science* 1993; 262: 242-4

Rouen-Noranda, rapport annuel d'activité 2001

Rouleau, M., Dion, C., Plamondon, P., L'espérance, G., Zayed, J. (2005)

Physical and characterization of beryllium particules from several workplaces in Québec, Canada – Part B: Time-of-flight secondary ion mass spectroscopy.

Saltini, C., Richeldi, L., Losi M., Amicosante, M., Voorter, C. Van Den Berg-loonen, E., Dweik, R. A., Wiedemann, H. P., Deubner, D. C., Tinelli, C. 2001. Major histocompatibility locus genetic markers of beryllium sensitization and disease. *Eur. Respir. J* 18(4): 677-84

Sanders, C. L., Cannon W. C., Powers, G. L., Adee, R. R., Meier, D. M. 1975. Toxicology of high-fired beryllium oxide inhaled by rodents. II. Metabolism and early effects. *Arch Environ Health*; 30: 546-51.

Sharma, P., Shah, A., Shukla, S. 2002. Protective effect of tiron (4, 5-dihydroxybenzene-1,3-disulfonic acid disodium salt) against beryllium-induced maternal and fetal toxicity in rats. *Arch Toxicol*; 76:442-8

Schepers, G. W. H. 1964. Biological action of beryllium: Reaction of the Monkey to inhaled aerosols. *Ind Med Surg* 33: 1-16

Schepers, G. W. H., Durkan, T. M., Delahant A. B. *et al.* 1957. The biological action of inhaled beryllium sulfate: a preliminary chronic toxicity study on rats. *Arch Ind Health* 15: 32-38.

- Sendelbach, L. E., Tryka, A. F., Witschi, H. 1989. Progressive lung injury over a one-year period after a single inhalation exposure to beryllium sulphate. *Am Rev Respir Dis* 139: 1003-1009.
- Shima, S., Yoshida, T., Tachikawa, S., Kato, Y., Watanabe, K., Kogame, Y., Miki, T., Kurita, H. 1983. Studies on the effects of beryllium oxide in purity and fired temperature to the occurrence of chronic pulmonary berylliosis. *Sangyo Igaku* 25: 91-105
- Skilleter, D. N. 1984. Biochemical properties of beryllium potentially relevant to its carcinogenicity. *Toxicol. Environ. Chem.* 7: 213-228
- Solvignon L: La béryllose : maladie inconnue? Bilan épidémiologique actuel en France et dans le monde. Thèse de médecine. Université Claude Bernard, Lyon I; 1995 : p. 98
- Stiefel, T., Schulze, K., Zorn, H. *et al.* 1980. Toxicokinetic and toxicodynamic studies of beryllium. *Arch Toxicol* 45:81-92.
- Stokinger, H. E., Spiegl, C. J., Root, R. E., Hall, R. H., Steadman, L. T., Stroud, C. A., Scott, J. K., Smith, E. A., Gardner, D. E. 1953. Acute inhalation toxicity of beryllium. *Arch. Ind.Hyg. Occup. Med.*, 8: 493-506.
- Tinkle, S. S., Antonini, J. M., Rich, B. A., Roberts, J. R., Salem, R., DePree, K., Adkins E. J. 2003. Skin as a source of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ Health Perspect*; 111: 1202-8.
- Tinkle, S. S. 2002. Cutaneous application of beryllium salts and oxide particles produces beryllium-specific peripheral sensitization in the C3H/HEJ Mice. Beryllium research symposium, Bethesda Maryland

- Tinkle, S. S., Kittle L. A., Schumacher B. A., Newman L. S. 1997. Beryllium induces IL-2 and IFN-gamma in berylliosis. *J. Immunol.*; 158: 518-26
- Toda, G. 1968. The effect of cations on the inhibition of sodium and potassium activated adenosinetriphosphatase. *J. Biochem.*, 64, 457
- Tolot, F., Prost, G. H., Dorsit, V. 1974. Les pneumopathies du beryllium (à propos de dix nouveaux cas personnels). *Arch. Mal. Prof.*, 35, 357.
- US Department of Energy (US DOE). Beryllium Lymphocyte Proliferation Test (BeLPT) - DOE Specification DOE-SPEC-1142-2001.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA), 1998. Toxicological review of beryllium and compounds.
- US Environmental Protection Agency (US-EPA), 1987. Health effects Assessment for beryllium and Compounds. Prepared for Office of solid waste and emergency response by environmental criteria and assessment, Office of Health and Environmental Assessment. ECAO-CIN-H113.
- United States Geological Survey, (USGS): Mineral Commodity summaries: beryllium. Washington Conference, 2001.
- U.S. Environmental Protection Agency 1990. interim methods for development of inhalation reference concentrations. Office of health and Environmental Assessment, Office of research and development, environmental criteria and assessment Office. EPA 600/8-90/066A.
- U.S. Environmental Protection Agency, (US EPA) 1998. Toxicological review of beryllium.

- U.S. Occupational Safety and Health Administration (US OSHA), 2002a. Preventing adverse health effects from exposure to beryllium in dental laboratories. Hazard information bulletin (HIB 02-04-19). Department of labor, 9p.
- Van Cleave, C. D., Kaylor, C. T. 1955. Distribution retention, and elimination of Be in the rat after intratracheal injection. Arch. Ind. Health. 11: 375-392.
- Van Ordstrand, H., Hugues, R., Denardi, J., Carmody, M. 1945. Beryllium poisoning. JAMA; 129: 1084-90
- Vervloet, A. : La béryllose professionnelle: à propos de six cas et étude bibliographique. Thèse de médecine. Faculté de médecine de Grenoble; 2001: page 130.
- Vorwald, A. J. 1968. Pneumoconiosis-diagnostic considerations. Mich Med 67(1): 33-4
- Vorwald A. J., et Reeves A. L. 1959. Pathologic changes induced by beryllium compounds experimental studies. Arch Ind Health 19(2): 190-9
- Wambach, P. F., Tuggle, R. M. 2000. Development of an eight-hour occupational exposure limit for beryllium. Appl Occup Environ Hyg 15: 581-587.
- Watanabe, K., Shia, S., Taccaceae *et al.* 1985. Biototoxicity and beryllium distribution in organs by oral administration of beryllium compounds for long periods. II. Experimental study on oral administration of beryllium compounds. Rodo Kagaku (J Science of labor) 61: 235-246.
- White, M. A. 1999. A comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry with electrothermal atomic absorption spectrometry for determination of trace elements in blood and urine from non occupationally exposed populations. J. Trace Elem. Med. Biol. 13; 93-101.

Williams, W. J. 1994. Beryllium disease. Occupational lung disorders. P. W. Raymond. London Butterworth Heinemann.

Williams, W. J., Williams, W. R., Kelland, D. *et al.* 1987. Beryllium skin disease. In: Proceedings from the 11 th World Conference on Sarcoidosis, Milan. Elsevier Press

Williams, W. J., Williams, W. R. 1983. Value of beryllium lymphocyte transformation tests in chronic beryllium disease and in potentially exposed workers. *Thorax* 38: 41-44

Witschi, H. P., Aldridge, W. N. 1968. Uptake, distribution, and binding of beryllium to organelles of rat liver cell. *Biochem. J.* 106: 811-820.

World Health Organisation (WHO), Geneva, 1990 Environmental health criteria (106) for beryllium.

Zielinski, J. F. 1961. A summary of the results of seven years of experience in investigating the dispersion of beryllium in the air of a modern alloy foundry. Workshop on beryllium pp 84-102.

Zorn, H., Stiefel, T. W., Beuers, R. Schlegelmilch, R., Seiler H. G., Sigel, H., eds. 1988 Handbook on toxicity of inorganic compounds. New York: Marcel Dekker, Inc.; 105-114.