

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

EN RÉSUMÉ

Métal incontournable dans les industries de pointe à fortes contraintes thermiques et mécaniques, le béryllium peut provoquer une béryllose pulmonaire chronique (BPC), précédée par un état de sensibilisation au béryllium (SeBe). La valeur limite d'exposition professionnelle sur 8 heures actuellement en vigueur en France insuffisamment protectrice, l'augmentation prévisible du nombre de sujets professionnellement exposés, la latence longue d'apparition de la BPC et l'absence d'outils standardisés de surveillance médicale justifient l'intérêt d'étudier des biomarqueurs d'exposition et d'effets précoces au niveau de l'organe cible, le poumon. Cette étude propose de les mesurer dans le condensat de l'air exhalé, nouvelle matrice biologique.

AUTEURS :

A. Radauceanu¹, M. Grzebyk¹, S. Hulo^{2,3}, J.L. Edmé^{2,3}, D. Rousset¹, M. Dziurla¹, V. Matera¹, N. Chérot-Kornobis^{2,4}, V. de Broucker^{2,3}, A. Sobaszek^{2,4}, G. Hédelin¹

1. Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS)

2. EA 4483 – IMPECS- IMPact de l'environnement chimique sur la santé humaine, Université Lille

3. Service des explorations fonctionnelles respiratoires, CHU Lille

4. Service de médecine du travail du personnel hospitalier, CHU Lille

MOTS CLÉS

Béryllium / Surveillance biologique / Surveillance médicale / Affection respiratoire / Biométrie / Suivi médical

Le béryllium (Be) est un métal doté de caractéristiques physico-chimiques intéressantes (résistances mécanique et à la corrosion, conductivité thermique, perméabilité aux rayons X, légèreté, point de fusion élevé), d'où son utilisation accrue dans les industries de pointe (aéronautique et aérospatiale, nucléaire et militaire, électronique, métallurgie, instrumentation scientifique et technique, fabrication de céramiques, matériel médical, prothèses dentaires, horlogerie, bijouterie). Le Be est utilisé essentiellement sous trois formes : Be métal, alliages à base de Be (contenant de 2 à 60 % de Be, avec l'aluminium – Al, le nickel – Ni, le cuivre – Cu, le nickel-chrome, le nickel-cobalt...) et oxydes de Be. L'exposition prolongée par inhalation à des niveaux faibles de Be

(poussières, fumées, aérosols) peut conduire à la béryllose pulmonaire chronique (BPC), une granulomateuse immunologique d'hypersensibilité de type retardée. La sensibilisation spécifique au Be (SeBe) est une étape préalable nécessaire à la survenue d'une béryllose et peut se produire par voie respiratoire ou par contact cutané. La sensibilisation, qui met en jeu l'immunité cellulaire sans manifestation clinique, est rapportée dans des cohortes professionnelles aux États-Unis chez 1 à 16 % des sujets exposés dans différentes industries [1]. Dans ces mêmes cohortes, 11 % des travailleurs au maximum ont développé une béryllose chronique [2]. La SeBe et la BPC nécessitent un temps de latence qui peut aller de 2 mois jusqu'à 40 ans. Ce fait, ajouté à l'utilisation croissante de Be dans l'industrie, explique la persistance

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

de cette maladie. La BPC est un modèle de maladie multifactorielle, conséquence de l'interaction entre des facteurs environnementaux, individuels et génétiques [3, 4]. La sensibilisation est explorée par le test de transformation des lymphocytes (TTL ou Be-LPT) en présence de Be, réalisé sur échantillon sanguin ou de lavage broncho-alvéolaire (LBA) [5]. Dans une étude longitudinale de faible puissance (55 sujets) [6], le taux annuel de progression de la SeBE vers la BPC était de 6 à 8 %, pour un suivi moyen de 3,8 ans. Les indicateurs de la progression vers la BPC étaient la lymphocytose dans le LBA à l'inclusion (22 % vs 15 %) et le fait d'avoir occupé le poste de machiniste, mais aucune donnée d'exposition n'a été incluse dans l'analyse. Les taux de BPC parmi les sujets sensibilisés variaient de 27 à 100 %, cependant, il est probable que la BPC ait été sous-diagnostiquée du fait de la méconnaissance de l'exposition au Be et de la ressemblance clinique avec une sarcoïdose, ou avec une fibrose interstitielle diffuse idiopathique [7]. En effet, dans une cohorte allemande et israélienne de 536 patients diagnostiqués avec une sarcoïdose, 84 avaient des antécédents d'exposition au Be et 34 une beryllose chronique [8].

En France, il n'existe pas d'extraction ni de traitement de minerai de Be. Ce métal est importé sous forme de Be pur, d'oxyde, d'alliages et de déchets contenant du Be. À partir de la base de données CAREX (1990-1992) (*CARcinogen EXposure*), le nombre de travailleurs en contact avec le Be et ses composés, en France, a été estimé à 12 000 en 2003 [9, 10], mais une augmentation du nombre de salariés exposés est prévisible, en raison du développement des activités de recyclage des métaux, en particulier le cuivre

auquel le Be est fréquemment allié. La valeur limite d'exposition professionnelle actuellement en vigueur en France, exprimée comme moyenne d'exposition pondérée 8 heures/jour (VLEP-8h), est de $2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Plusieurs études ont montré qu'elle n'est pas suffisamment protectrice vis-à-vis du risque de sensibilisation au Be et de BPC, susceptibles d'apparaître à des niveaux d'exposition 20 à 100 fois inférieurs [11], de l'ordre de 0,05 et $0,20 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ [12]. Une expertise collective de l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) portant sur l'évaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur les lieux de travail pour le Be et ses composés, a recommandé de fixer une VLEP-8h à $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ afin de prévenir la BPC et la SeBe. Étant donné qu'aucun seuil d'effet sanitaire ne peut être mis en évidence au regard de la cancérogénicité du Be, cette VLEP-8h « pragmatique » n'a pas pour but de prévenir des risques cancérogènes du Be et ses composés [12]. Cette valeur est assortie d'une mention « peau » (mention accordée aux substances pour lesquelles l'absorption cutanée peut potentiellement entraîner des effets sanitaires, indépendamment du respect des valeurs limites atmosphériques, le cumul des deux voies d'exposition pouvant entraîner un dépassement de la dose considérée comme n'induisant aucun effet sur la santé). La nouvelle valeur limite TLV-TWA (*Threshold limit value-Time weighted average*) adoptée en 2009 aux États-Unis par l'ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*) est de $0,05 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ [13].

En France, afin d'identifier les secteurs d'activité industrielle utili-

sant du Be et d'évaluer les niveaux d'exposition dans ces secteurs d'activité, l'INRS et les Caisses d'assurance retraites et de santé au travail (CARSAT) ont conduit une campagne de mesurage entre 2004 et 2006 [14]. Plus de 50 % des mesures atmosphériques réalisées dépassent la TVL-TWA et 15 % la VLEP-8h française. Les mesures atmosphériques les plus élevées ont été observées dans le secteur de la métallurgie (moyenne de $5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, avec 75 % des mesures atmosphériques qui dépassent $0,05 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ et 40 %, $2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) et celui de la fabrication d'équipements de radio, télévision et communication (moyenne de $2,4 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$).

Les données internationales publiées ont montré que, dans une usine de production de céramiques à partir d'oxydes de Be, l'usinage des métaux semble l'activité la plus à risque de sensibilisation et de beryllose [15]. La prévalence de la sensibilisation pour les personnes ayant travaillé avant 1992 était de 30 % pour les activités d'usinage vs 16 % pour les autres activités, et la prévalence de la beryllose respectivement de 20 % et 12 %. Le suivi pendant 11 ans, à partir de 1992, de la même cohorte de 136 travailleurs a montré, pour ceux ayant travaillé dans l'usinage avant 1992, une incidence cumulée de la sensibilisation et de la beryllose de 15 % et de 11 % respectivement et des prévalences de 20 % et 14 % respectivement [2]. Des données récentes concernant l'évaluation des programmes de prévention mis en place dans des entreprises de production/usinage de différentes formes de Be – métal, oxyde, alliages – ont montré que la prévalence de la SeBe a été divisée par plus de 10 dans les neuf années suivant l'instauration de programmes de prévention : 10 % avant et 0,7 % après le début des pro-

↓ Encadré 1

> SURVEILLANCE MÉDICALE DES TRAVAILLEURS EXPOSÉS AU BÉRYLLIUM

Le béryllium est un cancérogène avéré pour le poumon ; il est classé cancérogène catégorie 1B (H350) dans le cadre du règlement CLP et dans le groupe 1 des cancérogènes certains pour l'homme par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC). La prévention des risques liés au béryllium et ses composés répond aux mêmes exigences que toute démarche de prévention et en particulier à celles de la prévention du risque chimique. Sa formalisation (évaluer, supprimer ou réduire les risques, informer et former) est identique à celle mise en œuvre pour l'ensemble des risques professionnels.

L'attribution de la mention « peau » par le comité d'experts spécialisés (CES VLEP) de l'ANSES souligne l'importance de prendre en compte la voie cutanée lors de l'évaluation de l'exposition afin de mettre en œuvre des mesures de prévention appropriées (port de gants, évaluation de la contamination surfacique...) [12].

Les travailleurs exposés au béryllium relèvent d'une surveillance médicale renforcée, avec une périodicité minimale des visites médicales de 24 mois (article R. 4624-18 du Code du travail)*. Il n'existe à ce jour

aucune recommandation officielle spécifique concernant le contenu de la surveillance médicale des salariés exposés au béryllium et ses composés. Toutefois, les recommandations pour la surveillance des salariés exposés à des cancérogènes pulmonaires peut servir de guide [10]. Le contenu des visites médicales est laissé à l'appréciation du médecin du travail en fonction des études de poste et des résultats de l'évaluation du risque. Néanmoins, préalablement à l'exposition et en cours d'exposition, il est souhaitable que soient réalisées une radiographie pulmonaire (RP) et des explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) avec une courbe débit-volume (et éventuellement une DLCO – capacité de diffusion du monoxyde de carbone).

En fonction de l'évaluation des risques, la mise en place d'une surveillance biologique de l'exposition (SBEP) sera discutée, et notamment le dosage du béryllium urinaire.

L'étude de la pertinence de la mise en place d'indicateurs biologiques d'exposition associés ou non à une valeur limite biologique pour les salariés exposés au béryllium et des composés est en cours au sein du CES VLEP de l'ANSES [12].

* (novembre 2016)

grammes [16]. Les mesures prises comprenaient plusieurs aspects, comme la ventilation des locaux, la propreté et l'hygiène, la circulation et l'organisation des activités, l'utilisation de gants, masques et combinaisons, la formation des salariés et les contrôles administratifs.

L'exposition au Be peut également avoir une origine non-professionnelle liée au tabagisme (Be présent dans les cigarettes) et à la pollution environnementale (l'intensification de l'utilisation industrielle du Be explique sa présence dans la terre, l'eau, les produits agricoles ou la poussière de maison) [3, 4].

Les données sur les effets respiratoires en lien avec les expositions actuelles au Be sont rares dans la littérature scientifique. Pour la plupart, elles ont été publiées il y a plus de 15 ans et sont en rapport avec des expositions anciennes ou dans des secteurs à faible exposition comme le nucléaire [17, 18].

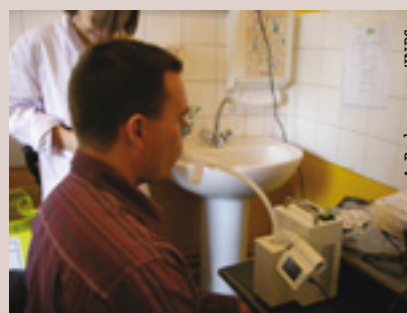
La VLEP-8h actuellement en vigueur en France insuffisamment protectrice, la latence longue de la BPC et l'absence d'outils de surveillance médicale standardisée des salariés exposés (encadré 1) mettent en avant l'intérêt d'identifier les effets précoces des expositions actuelles sur la santé respiratoire des salariés exposés au Be. D'autant plus que la soustraction au risque a pour but de stopper l'évolution d'une BPC débutante chez les sujets atteints asymptomatiques et d'éviter l'apparition de la BPC chez les sujets sensibilisés [7]. Réservés encore à la recherche, les indicateurs biologiques ou biomarqueurs d'effets précoces analysés dans les condensats de l'air exhalé pourraient, à terme, être utilisables pour la surveillance médicale de salariés professionnellement exposés et avoir un intérêt particulier dans le cadre de la pré-

vention des risques chimiques [19].

Dans ce contexte, une étude transversale auprès de salariés actifs exposés au Be sous différentes formes physico-chimiques a été conduite afin d'analyser l'effet de l'exposition professionnelle au Be sur des indicateurs de santé respiratoire. Il s'agit d'analyser des biomarqueurs dans les condensats de l'air exhalé (encadré 2), obtenus par une méthode entièrement non invasive et permettant d'explorer de manière répétée l'inflammation du poumon profond. Encore en cours de validation clinique, l'analyse du condensat de l'air exhalé a fait l'objet de recommandations méthodologiques et de standardisation concernant le recueil du condensat et les dosages des biomarqueurs [20]. Il ne semble pas exister, à ce jour, de donnée publiée concernant l'analyse du condensat d'air exhalé chez les salariés exposés au Be. L'objectif secondaire a été de tester la faisabilité de

↓ Encadré 2

> CONDENSAT DE L'AIR EXHALÉ - INVESTIGATION RÉALISABLE SUR LE LIEU DE TRAVAIL



Les condensats de l'air exhalé permettent en même temps la mesure de l'exposition et des effets précoces de toxiques au niveau pulmonaire, sans modifier les autres paramètres fonctionnels respiratoires ou de l'inflammation. Ils présentent tout l'intérêt d'être intégrés dans la batterie de tests non invasifs appropriés aux études épidémiologiques en entreprise.

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

la mesure du Be dans les condensats de l'air exhalé.

MÉTHODOLOGIE

Les paramètres fonctionnels respiratoires et de l'inflammation pulmonaire ont été recueillis lors d'épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) par la spirométrie et par la mesure de la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FeNO). Les biomarqueurs d'effets (marqueurs de l'inflammation et du stress oxydant) ont été mesurés dans les condensats de l'air exhalé. Les données des salariés exposés au Be ont été comparées aux données d'un groupe de salariés non-exposés à ce métal, recrutés dans les mêmes entreprises ainsi que dans deux autres entreprises de service.

POPULATION DE L'ÉTUDE

Les salariés ont été recrutés entre 2009 et 2011 dans des entreprises dont l'exposition au Be a été préalablement objectivée par des mesures atmosphériques et/ou surfaciques. Elles appartenaient aux secteurs aéronautique, électronique et électromécanique de haute précision, production d'aluminium pour le groupe exposé, et aux entreprises de nettoyage et de restauration pour le groupe non-exposé. Les salariés ont été inclus dans l'étude sur la base du volontariat, après information collective en réunion du Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (CHSCT) et individuelle écrite et orale, et la signature du formulaire de consentement. Les accords réglementaires relatifs à l'étude ont été préalablement obtenus : Comité de protection des personnes Est-III, Agence française

de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL).

DONNÉES INDIVIDUELLES RECUEILLIES

Les données individuelles ont été recueillies auprès des salariés au cours d'une seule visite, par un questionnaire standardisé et par les mesures des paramètres fonctionnels respiratoires et des biomarqueurs exhalés (figure 1).

QUESTIONNAIRE

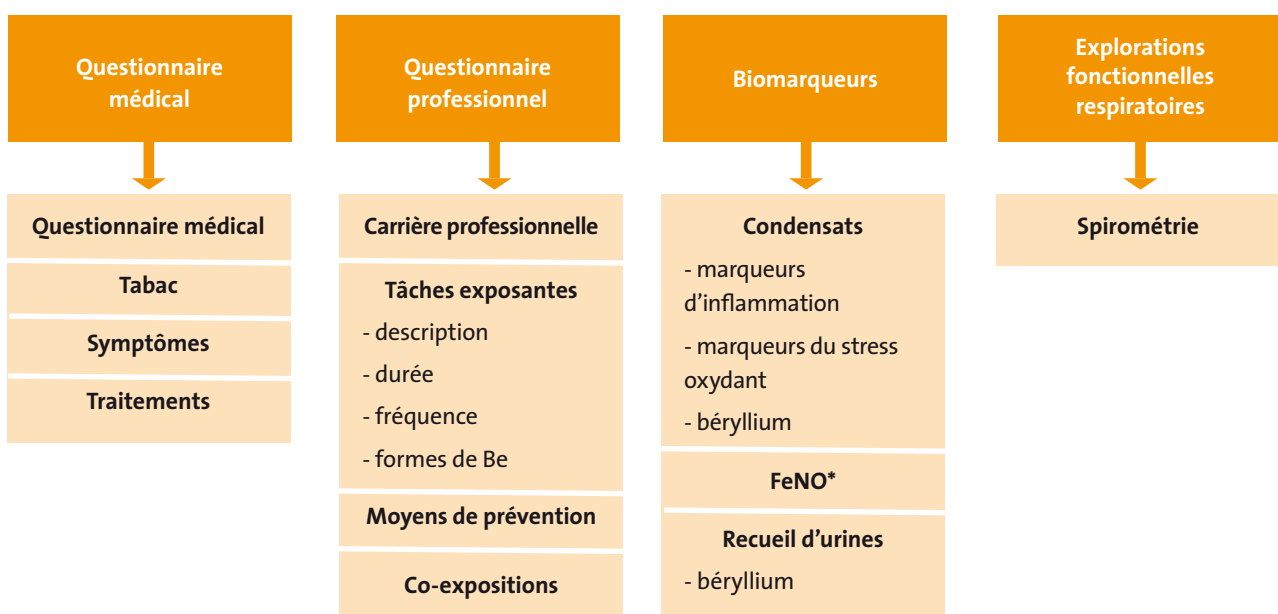
Il comportait deux parties.

■ Le questionnaire médical de la Communauté européenne du charbon et de l'acier (CECA) [21] a été utilisé car il est adapté au recueil les données sociodémographiques et cliniques suivantes :

● l'âge, le sexe, la taille, le poids ;

↓ Figure 1

Recueil des données individuelles



*FeNO = fraction exhalée du monoxyde d'azote

- la consommation de tabac : fumeur, ex-fumeur, non-fumeur ;
- les antécédents respiratoires : asthme, polyposse nasale, apnée du sommeil... ;
- les symptômes respiratoires (auto-déclaration) : toux sèche ou productive, dyspnée, douleurs thoraciques, infections respiratoires. L'ancienneté et la durée ont été renseignées ;
- les symptômes généraux (auto-déclaration) : asthénie, perte de poids, douleurs articulaires, sueurs, épisodes fébriles. L'ancienneté et la durée ont été renseignées ;
- les traitements en cours, date et heure de la dernière prise.
- Un questionnaire de carrière professionnelle a permis de renseigner :
 - l'histoire professionnelle avec reconstitution de la carrière dans son ensemble : emplois successifs avec indication des dates de début et de fin ;
 - la description détaillée des postes de travail potentiellement exposants au Be occupés dans l'entreprise et au cours des emplois successifs : liste des tâches par poste, durée et fréquence de chaque tâche exposante, formes et composants de Be concernés, moyens de protection collective, protection individuelle au poste de travail et leur fréquence d'utilisation. À également été recueillie la date de la dernière tâche exposante rapportée par le salarié ;
 - les expositions professionnelles à d'autres toxiques pulmonaires au cours des emplois successifs.

EXPLORATIONS FONCTIONNELLES RESPIRATOIRES

La spirométrie a été réalisée par un technicien entraîné, à l'aide du même spiromètre (SpeeDyn®, Dyn'R, Muret, France) pendant toute la durée de l'étude. La capacité vitale forcée (CVF), le volume expi-

ratoire maximum à la première seconde (VEMS), l'indice de Tiffeneau (VEMS/CVF), le débit expiratoire de pointe (DEP) et les débits expiratoires maximaux à différents volumes pulmonaires (DEM 25, DEM 25-75, DEM 75) ont été mesurés selon les recommandations en vigueur [22]. Les résultats ont été exprimés sous forme de rapport entre les valeurs observées et celles prédites à partir des valeurs de référence de l'*European Respiratory Society*.

MESURE DE LA FRACTION EXHALÉE DU MONOXYDE D'AZOTE (FENO)

La mesure de la FeNO a été réalisée pour tous les salariés par chimiluminescence (ENDONO 8000®, SERES, Aix-en-Provence, France) selon les recommandations de l'*American Thoracic Society* [23].

RECUEIL DES CONDENSATS DE L'AIR EXHALÉ (CAE)

Les CAE ont été recueillis indépendamment de l'heure de prise de poste. Ils ont été obtenus par le recueil et le refroidissement à - 4°C de l'air exhalé lors d'une ventilation orale calme pendant 30 minutes, à l'aide d'un matériel de recueil portable (Turbo-DECCS, Medivac, Parme, Italie) selon les recommandations en vigueur [20]. Un volume de 2 à 4 ml de condensat a été ainsi recueilli et réparti ensuite dans plusieurs aliquotes congelés immédiatement puis stockés à - 80°C.

DOSAGE DES BIOMARQUEURS DANS LES CAE

En fonction du volume recueilli, plusieurs biomarqueurs d'effet non spécifiques ont pu être mesurés :

- les marqueurs de l'inflammation : protéines totales, *tumor necrosis factor α* (TNF α) ;
- les marqueurs du stress oxydant et nitrosant : 8-isoprostane (8-IP), 3-nitrotyrosine (3-NT), oxydes

d'azote (NOx).

Les mesures ont été réalisées à l'Université de Lille par des méthodes validées dans la littérature :

- 8-IP par EIA (*Enzyme immunoassay*) kit (Cayman, Interchim), lecture avec spectromètre 405 à 420 nm (Apollo LB912 ; Berthold Technologies) (limite de quantification 3 pg.ml⁻¹) ;
- protéines par la méthode μBCA (*MicroBC assay Protein Quantitation Small kit*, Uptima, Interchim) sur du condensat brut décongelé (limite de quantification 1,1 μg.ml⁻¹) ;
- TNF α par ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) kit *Human TNF alpha Ultra Sensible*, Invitrogen, DO 450 nm (limite de quantification 0,09 pg.ml⁻¹) ;
- NOx (nitrites et nitrates) par une première étape de réduction des nitrates en nitrites (technique enzymatique en tube, Sigma, Saint-Quentin-Fallavier, France) suivie par la détection spectrophotométrique des nitrites totaux par la méthode Griess (*Griess Reagent Kit*, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) (limite de détection 2 μmol.l⁻¹) ;
- 3-NT par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS) (limite de détection 20 pg.ml⁻¹).

DOSAGE DU BE DANS LES CAE

La faisabilité de la mesure du Be dans le condensat de l'air exhalé a constitué l'objectif secondaire de l'étude. Un recueil ponctuel d'urines a été réalisé en même temps que celui du CAE afin de comparer les mesures de Be dans les deux matrices biologiques : les urines (mesures déjà utilisées dans la pratique courante) et les condensats d'air exhalé (première tentative de mesurer le Be dans cette matrice biologique). Les mesures du Be dans les urines (et aussi dans les CAE) n'ayant pas été utilisées pour évaluer l'exposition au Be, les recueils d'urines ont

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

été effectués indépendamment de l'heure de prise de poste.

Les mesures du Be dans les urines et dans le condensat ont été réalisées par spectrométrie de masse à plasma induit. La limite de quantification du Be est de 1 ng.l⁻¹ dans le condensat d'air exhalé et de 6,4 ng.l⁻¹ dans les urines.

ÉVALUATION DE L'EXPOSITION PROFESSIONNELLE AU BE

Les données recueillies par questionnaire ont permis un premier classement des sujets en fonction de leur statut d'exposition au Be en deux groupes - non-exposé et exposé (figure 2). Le groupe exposé a été divisé en trois sous-groupes d'exposition en tenant compte à la fois de la voie principale d'exposition et de la forme de Be : sous-groupe exposé aux formes solubles, sous-groupe exposé aux formes moins solubles et sous-groupe exposé par voie cutanée. La voie d'exposition pour les groupes exposés aux formes solubles et aux formes moins solubles de Be est principalement respiratoire.

L'exposition professionnelle au Be des salariés a été quantifiée à l'aide des matrices tâches-expositions constituées pour chaque entreprise en partie à partir de données qu'elle a fournies. En effet, lors de la pré-visite de l'entreprise, les données suivantes concernant l'entreprise et l'activité du site industriel ont été recueillies par questionnaire auprès des encadrants (directeur, responsable hygiène sécurité, encadrants de proximité) : le secteur d'activité, la matière première, la forme de Be utilisée et le(s) fournisseur(s), l'effectif de salariés potentiellement exposés, la vie du produit dans l'entreprise, les procédés et postes de travail, l'empoussièrement et les co-expositions aux autres toxiques

pulmonaires (aluminium, titane, zirconium, baryum, cuivre, cobalt, fibres de verre, laine de roche...), les moyens de protection collective et individuelle et leurs évolutions dans le temps.

Des visites de postes ont été effectuées lors de la pré-visite. Pour tous les sites industriels, les mesures d'exposition atmosphérique ou surfacique au Be et aux autres nuisances chimiques réalisées antérieurement, soit par des laboratoires interrégionaux de chimie des CARSAT, soit par l'INRS ou par des prestataires extérieurs ont été mises à disposition. L'ensemble de ces informations a été synthétisé dans des matrices tâches-expositions propres à chaque entreprise.

À partir de la description de la carrière professionnelle du salarié et de la matrice tâches-expositions de son entreprise, les indicateurs d'exposition suivants ont été calculés pour tous les sujets exposés par voie principalement respiratoire (figure 2) :

- délai depuis la dernière exposition au Be : nombre de jours entre le jour de la visite et la date de la dernière exposition au Be ;
- durée des emplois exposants : durée totale des emplois exposants au Be, calculée sur l'ensemble de la carrière professionnelle (années) ;
- durée d'exposition pondérée : somme des produits entre la durée des tâches/postes exposants au Be et leur fréquence, calculée sur l'ensemble de la carrière professionnelle (années) ;
- indice d'exposition cumulée : somme des produits entre la durée, la fréquence et l'intensité de l'exposition au Be pour chaque tâche/poste exposant, calculé pour l'ensemble de la carrière professionnelle (µg.m⁻³.années) ;
- indice d'exposition moyen carrière entière : rapport entre l'indice

d'exposition cumulée et la durée d'exposition au Be (µg.m⁻³) ;

- intensité d'exposition au poste actuel : produit entre la fréquence et l'intensité de l'exposition au poste occupé au moment du recueil de données (µg.m⁻³).

CO-EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES À DES AGENTS TOXIQUES POUR LE POUMON

Les co-expositions aux toxiques pulmonaires ont été limitées aux co-expositions au poste actuel susceptibles de modifier les marqueurs de l'inflammation recueillis. À chaque sujet a été attribué un indice de co-exposition, basé sur le nombre de nuisances et la durée des tâches co-exposantes, pondéré par la fréquence.

ANALYSE STATISTIQUE

Une analyse descriptive des indicateurs d'exposition et des données individuelles de santé a été réalisée par groupe d'exposition. Une analyse descriptive des mesures du Be dans le condensat de l'air exhalé et dans les urines a été réalisée par groupe d'exposition. Les corrélations entre le Be urinaire et le Be dans le condensat d'air exhalé, et entre le NO exhalé et les NOx dans le condensat d'air exhalé ont été évaluées à l'aide des coefficients de corrélation de Pearson.

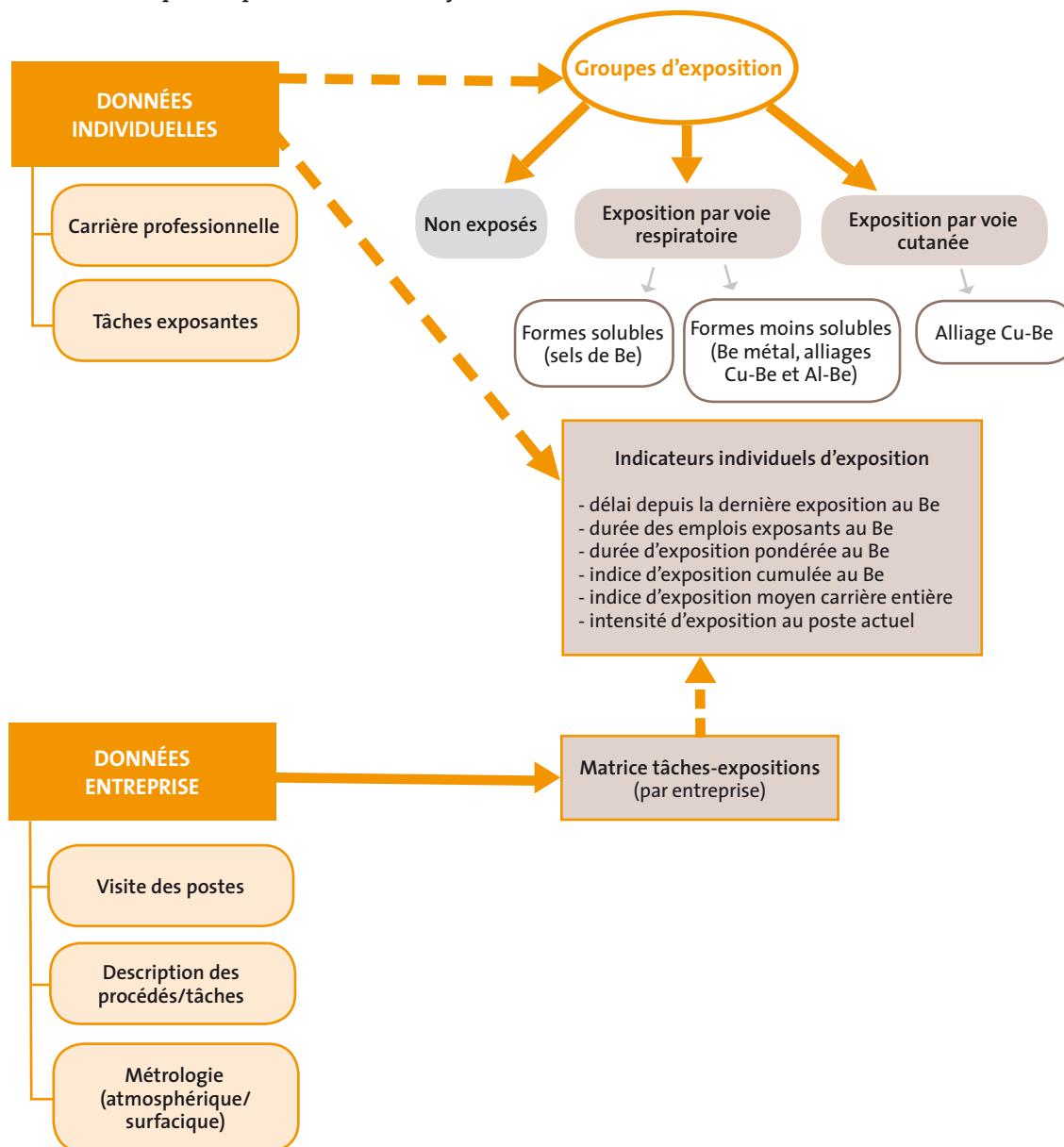
L'analyse statistique a modélisé les marqueurs de santé respiratoire en fonction de l'exposition au Be en prenant en compte des facteurs d'ajustement, dans les différents groupes d'exposition. Des régressions linéaires multiples ou des régressions logistiques multiples ont été utilisées selon la nature de la variable à expliquer.

Les marqueurs de santé respiratoire à expliquer ont été :

- les mesures spirométriques : rap-

↓ Figure 2

Évaluation de l'exposition professionnelle au béryllium



ports entre les valeurs observées et les valeurs prédites du CVF, VEMS, VEMS/CVF, DEP, DEM 25-75 ;
 ● les mesures de la fraction exhalée du monoxyde d'azote (FeNO) ;
 ● les marqueurs d'effet mesurés dans le condensat d'air exhalé : protéines, oxydes d'azote (NOx), 8-IP, 3-NT, TNF α .
 Les indicateurs d'exposition profes-

sionnelle au Be analysés ont été :
 ● le délai depuis la dernière exposition au Be (jours) ;
 ● la durée des emplois exposants au Be (années) ;
 ● la durée d'exposition pondérée (années) ;
 ● l'indice d'exposition cumulée ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^3 \cdot \text{années}$) ;
 ● l'indice d'exposition moyen car-

rière entière ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^3$) ;
 ● l'intensité d'exposition au poste actuel ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^3$).
 Après l'analyse de la littérature, les facteurs d'ajustement suivants ont été retenus : le sexe, le statut tabagique, les antécédents respiratoires confirmés par un médecin, la co-exposition professionnelle à des agents chimiques toxiques pour le

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

poumon autres que le Be. Dans toutes les analyses, pour les marqueurs présentant un nombre important de valeurs en dessous de la limite de quantification, un modèle Tobit simple à censures multiples a été utilisé [24].

RÉSULTATS

Un total de 120 travailleurs (âge moyen 44 ans, 69 % hommes) a été recruté entre 2009 et 2011 dans 8 entreprises. Dans cette population, 83 sujets étaient exposés et 37 non-exposés au Be.

Les sujets exposés ont été recrutés dans 6 entreprises, dont 3 d'usinage de Be métal et d'alliages à base de Be, 2 de production d'aluminium par électrolyse et 1 de montage-assemblage de connecteurs électriques. Dans ces entreprises, les salariés sont exposés à des formes solubles de Be (sels de Be dans la production d'aluminium) et à des formes moins solubles de Be sur les autres sites industriels (alliages Al-Be 62 %, Cu-Be 2 % et Cu-Be 3 %). La voie principale d'exposition est la voie respiratoire pour les entreprises d'usinage et de production d'aluminium et la voie

cutanée pour celle de montage-assemblage de connecteurs électriques.

Le groupe non-exposé a été recruté sur les mêmes sites industriels que les sujets exposés et dans des entreprises de nettoyage et de restauration. Le **tableau I** résume les effectifs par type d'exposition et secteur industriel.

Les caractéristiques sociodémographiques et cliniques des groupes exposé et non-exposé sont présentés dans le **tableau II**. Le groupe non-exposé est constitué d'une proportion significativement plus importante de femmes. Dans le groupe exposé, plus de la moitié des hommes est fumeurs actifs. À l'exception de la CVF, les deux groupes sont comparables en termes de fonction respiratoire.

Le **tableau III** détaille les valeurs (médianes et intervalles interquartile) des indicateurs d'exposition au Be par voie respiratoire du groupe exposé à des formes solubles et du groupe exposé à des formes moins solubles. À noter que toutes les mesures atmosphériques historiques qui ont été utilisées pour construire les matrices tâches-expositions et les indicateurs d'exposition étaient inférieurs à la VLEP-8h de 2 µg.m⁻³,

à l'exception d'un résultat à 3 µg.m⁻³ rapporté dans une entreprise d'usinage d'alliage Al-Be 62 %.

Les indicateurs d'exposition (durée médiane des emplois exposés de 12 ans et indice d'exposition cumulée de 2,1 µg.m⁻³.années) et de co-exposition les plus élevés sont retrouvés dans le groupe exposé aux formes solubles de Be dans le secteur de la production d'aluminium par électrolyse. À noter que, pour 3/4 de ce groupe, le délai depuis la dernière exposition au béryllium est de 1 jour alors que ce délai est supérieur ou égal à 7 jours pour les 3/4 du groupe exposé aux formes moins solubles. Dans le groupe avec exposition cutanée, la dernière exposition (cutanée) a eu lieu le jour même du recueil des données.

Les principaux produits auxquels ont été co-exposés les sujets du groupe exposé au Be sont l'aluminium, le cuivre, le fer, les brouillards d'huile et les solvants.

Les valeurs des biomarqueurs d'effet mesurés dans les différentes matrices biologiques sont présentées dans le **tableau IV** (p. 66). Comparés au groupe non-exposé, le groupe exposé aux formes moins solubles de Be et le groupe exposé par voie cutanée présentent des niveaux NOX

↓ **Tableau I**

> **EFFECTIFS RECRUTÉS PAR TYPE D'EXPOSITION ET SECTEUR INDUSTRIEL**

| Type d'exposition dans l'entreprise | Nombre d'entreprises | Secteur d'activité (forme de béryllium) | Nombre de sujets |
|---|----------------------|--|-----------------------------|
| Voie respiratoire → formes solubles de béryllium | 2 | Production d'aluminium par électrolyse (sels de béryllium) | 50 exposés 7 non exposés |
| Voie respiratoire → formes moins solubles de béryllium | 3 | Usinage des métaux (alliages Cu-Be 2 ou 3 %, Al-Be 62 %) | 21 exposés 8 non exposés |
| Voie cutanée | 1 | Montage-assemblage connecteurs électriques (Cu-Be 2 %) | 12 exposés 1 non exposé |
| Pas d'exposition au béryllium | 2 | Nettoyage, restauration | 21 non exposés |

↓ **Tableau II**

➤ **CARACTÉRISTIQUES SOCIODÉMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES DE LA POPULATION DE L'ÉTUDE (MOYENNE ± ÉCART-TYPE)**

| | Non exposés | Exposés | p* |
|--|-------------|-------------|--------------------|
| Nombre de sujets | 37 | 83 | |
| Sexe (H/F) | 13/24 | 70/13 | < 0,0001 |
| Âge (années) | 44,4 ± 10,8 | 43,8 ± 8,9 | 0,75 |
| Taille (cm) | Hommes | 177,7 ± 6,6 | 0,34 |
| | Femmes | 161,0 ± 4,1 | 0,94 |
| Poids (kg) | Hommes | 83,3 ± 9,3 | 0,70 |
| | Femmes | 61,9 ± 7,5 | 0,25 |
| Indice de masse corporelle (kg.m ⁻²) | 24,8 ± 3,1 | 26,3 ± 4,1 | 0,02 |
| <i>Statut tabagique, hommes (N (%))</i> | | | 0,04 |
| Fumeurs | 2 (15,4) | 36 (51,4) | |
| Ex fumeurs | 3 (23,1) | 13 (18,6) | |
| Non-fumeurs | 8 (61,5) | 21 (30,0) | |
| <i>Statut tabagique, femmes (N (%))</i> | | | 0,20 |
| Fumeurs | 9 (37,5) | 2 (15,4) | |
| Ex fumeurs | 1 (4,2) | 2 (15,4) | |
| Non-fumeurs | 14 (58,3) | 9 (69,2) | |
| Asthme ^(a) (N (%)) | 0 | 7 (8,4) | 0,07 |
| Polypes nasaux ^(a) (N (%)) | 0 | 1 (1,2) | 0,50 |
| <i>Mesures spirométriques (% prédit)</i> | | | |
| CVF | 108 ± 13 | 102 ± 13 | 0,03 |
| VEMS | 107 ± 12 | 105 ± 12 | 0,28 |
| VEMS/ CVF | 107 ± 7 | 108 ± 7 | 0,13 |
| DEP | 111 ± 16 | 111 ± 15 | 0,88 |
| DEM 25-75 | 101 ± 27 | 108 ± 26 | 0,22 |

* p < 0,05 statistiquement significatif, exposés vs non exposés

(a) confirmé par un médecin

CVF : Capacité vitale forcée ; VEMS : Volume expiratoire maximal à la première seconde

DEP : Débit expiratoire de pointe ; DEM 25-75 : Débit expiratoire médian mesuré entre 25 % et 75 % de la CVF

↓ **Tableau III**

➤ **PRINCIPAUX INDICATEURS D'EXPOSITION AU BÉRYLLIUM (MÉDIANE [INTERVALLE INTERQUARTILE]) DANS LES GROUPES EXPOSÉS PAR VOIE RESPIRATOIRE**

| | Exposés, formes solubles | Exposés, formes moins solubles |
|--|--------------------------|--------------------------------|
| Nombre de sujets | 50 | 21 |
| Durée des emplois exposants au béryllium (années) | 12,0 [6,4 ; 19,5] | 10,7 [3,7 ; 13,7] |
| Durée d'exposition pondérée (années) | 11,4 [5,1 ; 16,3] | 3,4 [0,5 ; 8,8] |
| Indice d'exposition cumulée (µg.m ⁻³ .années) | 2,122 [1,016 ; 3,750] | 0,042 [0,003 ; 0,548] |
| Indice d'exposition moyen carrière entière (µg.m ⁻³) | 0,184 [0,077 ; 0,293] | 0,003 [0,001 ; 0,189] |
| Intensité d'exposition au poste actuel (µg.m ⁻³) | 0,070 [0,024 ; 0,095] | 0,003 [0,001 ; 0,046] |
| Délai depuis la dernière exposition au béryllium (jours) | 0 [0 ; 1] | 8 [7 ; 9] |

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

↓ **Tableau IV**

➤ **RÉSULTATS DES MESURES DES BIOMARQUEURS (MOYENNE ± ÉCART-TYPE) DANS LES DIFFÉRENTS GROUPES D'EXPOSITION ET LES DIFFÉRENTES MATRICES**

| | Non exposés | Exposés aux formes solubles | Exposés aux formes moins solubles | Exposés par voie cutanée |
|---|------------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Biomarqueurs condensats et urines | | | | |
| Protéines totales (µg.ml ⁻¹) | 1,99 ± 1,63 (31/4) ^(a) | 2,37 ± 1,80 (39/8) 0,34 ^(b) | 1,91 ± 1,25 (13/3) 0,85 | 1,46 ± 0,48 (7/2) 0,13 |
| NOx (µM) | 8,23 ± 3,85 (34/0) | 8,67 ± 4,24 (48/0) 0,61 | 11,33 ± 3,92 (19/0) 0,004 | 17,23 ± 10,61 (9/0) 0,008 |
| 8-IP (pg.ml ⁻¹) | 3,62 ± 1,93 (31/0) | 2,88 ± 2,15 (48/0) 0,11 | 3,06 ± 2,73 (20/0) 0,41 | 3,30 ± 3,27 (10/0) 0,76 |
| TNF α (pg.ml ⁻¹) | 1,09 ± 0,63 (33/0) | 1,01 ± 0,39 (39/0) 0,55 | 1,15 ± 0,64 (21/0) 0,72 | 1,23 ± 0,60 (9/0) 0,49 |
| Be condensat (ng.l ⁻¹) | 0,43 ± 0,63 (22/20) | 1,14 ± 1,62 (36/24) 0,04 | < LDQ (15/15) 0,23 | < LDQ (5/5) 0,48 |
| Be urinaire (ng.g ⁻¹ créatinine) | 19,36 ± 23,92 (36/3) | 13,88 ± 24,64 (38/8) 0,03 | 32,85 ± 47,48 (18/0) 0,16 | non mesuré |
| Autres biomarqueurs exhalés | | | | |
| FeNO (ppb) | 37 ^(c) 15,22 ± 11,56 | 50 23,58 ± 21,98 0,02 | 21 15,46 ± 9,19 0,57 | 11 9,47 ± 4,86 0,04 |

^(a) nombre total d'échantillons analysés/nb échantillons analysés ≤ limite de quantification (LDQ)

^(b) p < 0,05 statistiquement significatif, exposés vs non exposés

^(c) nombre de mesures

NOx : oxydes d'azote ; 8-IP : 8-isoprostane ; TNF α : tumor necrosis factor α ; FeNo : fraction exhalée du monoxyde d'azote

dans le CAE significativement plus élevés. La 3 nitro-tyrosine (3-NT) n'a été détectée dans aucun échantillon. Une absence de corrélation a été observée entre les niveaux des NOx dans le condensat et la FeNO. Le Be a été détecté dans la plupart des CAE aussi bien chez les exposés (56 sujets sur un total de 83) que chez les non-exposés (22 sujets sur un total de 37). Cependant, sa quantification n'a été possible que dans un sous-groupe de sujets exposés à des formes solubles (12 sujets exposés à des sels de Be) et chez très peu de témoins (2 sujets) (tableau IV). Il est à noter que le délai depuis la dernière exposition des sujets exposés pour lesquels le Be a été quantifiable est inférieur à 20 jours, et le plus souvent de 1 jour. En prenant en compte toutes les valeurs (y compris celles inférieures

à la limite de quantification, mais pour lesquelles le Be a été détecté), les concentrations (moyennes ± écart-type) du Be dans les CAE sont estimées à 1,1 (± 1,6) ng.l⁻¹ chez les exposés à des formes solubles et à 0,4 (± 0,6) ng.l⁻¹ chez les non-exposés, différence statistiquement significative (cette différence reste statistiquement significative en stratifiant sur le statut tabagique fumeur/non-fumeur). La figure 3 présente la distribution des mesures du Be dans les CAE selon le groupe d'exposition. Le recueil urinaire pour la mesure du Be a été réalisé chez 92 sujets (36 témoins et 56 exposés). La concentration moyenne de Be la plus élevée a été observée dans le groupe exposé aux formes moins solubles (32,85 ± 47,48 ng.g⁻¹ créatinine). Pour les formes solubles, la concentration moyenne était significative-

ment inférieure à celle mesurée chez les non-exposés (cette différence reste statistiquement significative en stratifiant sur le statut tabagique fumeur/non-fumeur) (tableau IV). Les mesures du Be dans le condensat et dans les urines n'étaient pas corrélées (figure 4). Les paramètres fonctionnels respiratoires et les biomarqueurs de l'inflammation pulmonaire (FeNO, biomarqueurs d'effet dans le CAE) ont été analysés en relation avec les indicateurs d'exposition par des modèles multivariés avec ajustement sur le sexe, le tabac, les co-expositions et les antécédents respiratoires. Dans ces modèles, aucune relation statistiquement significative n'a été trouvée entre les indicateurs d'exposition au Be (délai depuis la der-

nière exposition, durée des emplois exposants, durée d'exposition pondérée, indice d'exposition cumulée, indice d'exposition moyen carrière entière, intensité d'exposition au poste actuel) et les paramètres fonctionnels respiratoires ou les valeurs de la FeNO.

Les résultats des modèles multivariés de l'analyse des biomarqueurs dans le CAE en fonction des différents indices d'exposition au Be sont résumés dans le [tableau V \(p. 68\)](#). La durée des emplois exposants au Be est associée, de manière statistiquement significative, au niveau des oxydes d'azote chez les sujets exposés aux formes solubles de Be et au niveau du TNF α chez ceux exposés aux formes moins solubles. L'intensité d'exposition au poste actuel est associée, de manière statistiquement significative, aux niveaux des protéines totales et des oxydes d'azote dans le CAE chez les sujets exposés aux formes solubles. Chez les sujets exposés par voie cutanée, le niveau des NOx dans le CAE est significativement plus élevé comparé au groupe non-exposé.

Aucune relation n'a été mise en évidence entre le Be dans le CAE et les paramètres spirométriques ou les biomarqueurs d'effet exhalés, ni même avec les indicateurs d'exposition.

DISCUSSION

Cette étude s'est intéressée particulièrement à des biomarqueurs mesurés dans le CAE, technique nouvelle permettant d'évaluer les effets infracliniques et l'exposition à des agents chimiques dont l'organe cible est le poumon.

Les résultats montrent que, chez les sujets exposés aux formes solubles de Be, l'intensité de l'exposition au

Figure 3

Distribution des mesures de béryllium dans les condensats d'air exhalé selon les différents groupes d'exposition (moyenne \pm écart-type)

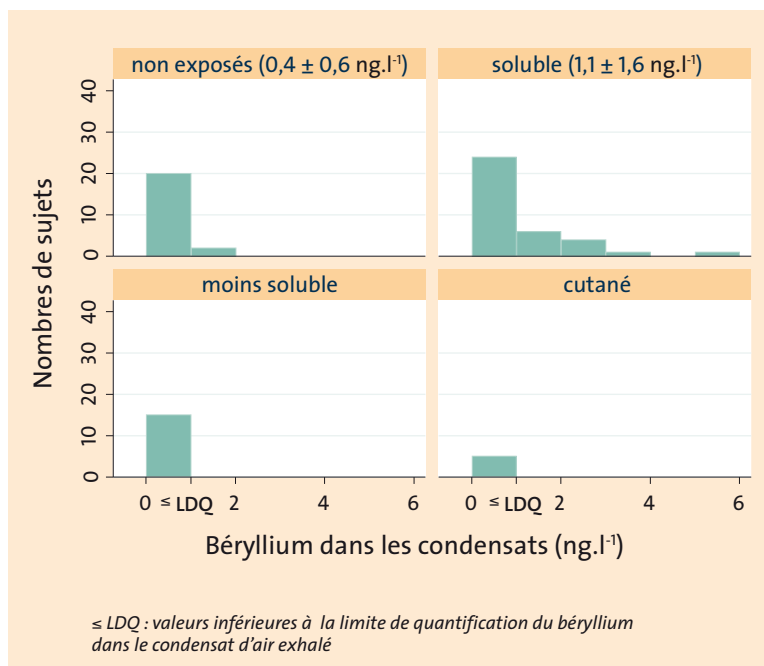
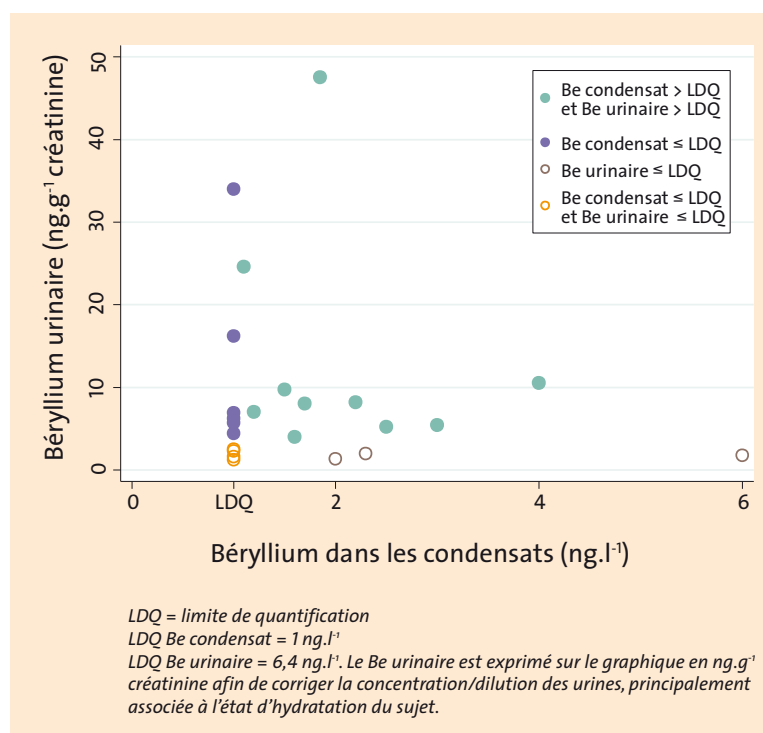


Figure 4

Corrélation entre les mesures du béryllium dans le condensat et les urines



Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

↓ **Tableau V**

> RELATIONS ENTRE LES NIVEAUX DES BIOMARQUEURS DANS LE CONDENSAT D'AIR EXHALÉ ET LES INDICATEURS D'EXPOSITION AU BÉRYLLIUM DANS LES DIFFÉRENTS GROUPES D'EXPOSITION

| Groupe exposé aux formes solubles de béryllium | |
|--|--|
| Protéines totales | Associés à l'intensité d'exposition au poste actuel ($\beta^{(a)} = 2,32 \pm 0,94$; $p^{(b)} = 0,01$) |
| TNF α | Aucun indicateur d'exposition associé |
| NO _x | Associés à la durée d'exposition ($\beta = 0,01 \pm 0,06$; $p = 0,02$) et à l'intensité de l'exposition au poste actuel ($\beta = 0,6 \pm 0,24$; $p = 0,01$) |
| 8-IP | Aucun indicateur d'exposition associé |
| Groupe exposé aux formes moins solubles de béryllium | |
| Protéines totales | Aucun indicateur d'exposition associé |
| TNF α | Associé à la durée d'exposition ($\beta = 0,03 \pm 0,01$; $p = 0,01$) |
| NO _x | Aucun indicateur d'exposition associé |
| 8-IP | Aucun indicateur d'exposition associé |
| Groupe exposé par voie cutanée (pas d'indicateur d'exposition calculé) | |
| Protéines totales | — |
| TNF α | — |
| NO _x | Associés au statut exposé ($\beta = 0,63 \pm 0,17$; $p < 0,01$) |
| 8-IP | — |

(a) β = coefficient de régression (moyenne \pm erreur-type), estimant l'augmentation des niveaux des biomarqueurs (exprimée dans leurs unités respectives) associée de manière statistiquement significative à l'augmentation d'une unité des indicateurs d'exposition au Be

(b) $p < 0,05$ statistiquement significatif

NO_x : oxydes d'azote ; 8-IP : 8-isoprostane ; TNF α : tumor necrosis factor α

poste actuel est associée de manière statistiquement significative au niveau des protéines totales et des NO_x dans le CAE. En plus, dans ce même groupe, la durée d'exposition au Be est associée au niveau des NO_x. Chez les sujets exposés aux formes moins solubles de Be, la durée d'exposition est associée de manière statistiquement significative au niveau du TNF α dans le CAE. Enfin, dans le groupe exposé par voie cutanée, le niveau des NO_x dans le CAE est significativement plus élevé comparé aux non-exposés.

Les phénomènes inflammatoires et oxydatifs sont liés et coexistent lors des atteintes pulmonaires. Composantes non-volatiles du condensat,

les protéines totales sont considérées comme des biomarqueurs de l'inflammation à part entière. Une différence significative des concentrations de protéines totales dans le CAE a été rapportée chez les fumeurs sains comparés aux non-fumeurs et chez les patients atteints d'asbestose ou de fibrose pulmonaire comparés aux témoins [25 à 27]. Dans le cas présent, l'intensité de l'exposition au poste actuel est associée de manière statistiquement significative au niveau des protéines totales dans le CAE pour les formes solubles de Be, ce qui suggère l'hypothèse d'une réponse quantifiable à l'exposition aux agents chimiques professionnels

toxiques pour le poumon. Ainsi, le changement dans le profil protéique pourrait survenir rapidement après l'exposition aux formes solubles et probablement peu biopersistantes comme les sels de béryllium. Cependant, ces résultats sont à interpréter avec prudence étant donné la variabilité élevée du dosage des protéines totales liée à la dilution, la contamination salivaire, l'équipement de recueil ou la méthode analytique [28].

Cytokine proinflammatoire puissante intervenant dans le recrutement cellulaire et la formation des granulomes immunitaires dans le poumon, le TNF α semble un marqueur robuste malgré les observations faites par Kuban sur ses faibles niveaux de concentrations dans le CAE et sa variabilité de mesure [29]. Dans l'étude présente, chez les sujets exposés aux formes moins solubles de Be, la durée d'exposition est associée de manière statistiquement significative au niveau de TNF α dans le CAE. La durée des emplois exposants représente un indicateur d'exposition plus robuste que l'estimation rétrospective de l'exposition, basée principalement sur des séries de mesures antérieures réalisées dans des laboratoires différents. Par ailleurs, le calcul des indicateurs d'exposition pourrait être biaisé, ici, par l'oubli ou la méconnaissance par les salariés eux-mêmes des tâches et des expositions professionnelles antérieures. En outre, les indicateurs d'exposition dans l'étude présente ne concernent que l'exposition professionnelle alors qu'on peut s'attendre à une exposition au Be liée à l'environnement et au tabagisme [3, 4]. D'ailleurs, la part environnementale de l'exposition au Be est probable puisque du Be (dans les urines et le CAE) a été

détecté et quantifié dans le groupe professionnellement non-exposé. L'effet de la durée d'exposition sur le niveau du TNF α dans le CAE ne permet pas, dans l'état actuel des connaissances, une interprétation clinique, notamment en termes de prédiction du risque de maladie, mais le lien entre la durée des emplois exposants et le niveau de TNF α montré dans des modèles multivariés suggère l'intérêt potentiel du TNF α dans le CAE comme biomarqueur infraclinique des atteintes pulmonaires liées au Be. Cela d'autant plus que les résultats prennent en compte les co-expositions dans des modèles d'analyse avec ajustement statistique.

Produits non volatiles stables du métabolisme oxydatif du monoxyde d'azote (NO), les oxydes d'azote dans le CAE (NOx : nitrites et nitrates) sont des biomarqueurs directs du stress oxydant au niveau pulmonaire, dont les dosages sont les plus avancés en termes de robustesse, reproductibilité et standardisation [29]. Murgia et al. ont trouvé, deux heures après la fin du poste, des concentrations de nitrites dans le CAE plus élevées chez des salariés « sains » exposés au chrome et aux fumées de soudage comparés à des sujets non-exposés [30]. De plus, Gube et al. ont rapporté une augmentation significative des concentrations de nitrites et de nitrates dans le CAE en fin de poste chez les soudeurs ne portant pas de protection respiratoire [31].

Dans l'étude présente, l'intensité d'exposition au poste actuel ainsi que la durée d'exposition sont associées de manière statistiquement significative au niveau des NOx dans le CAE chez les salariés exposés aux formes solubles de Be. Ce résultat suggère l'intérêt des NOx pour renseigner le caractère aigu ou chronique de l'atteinte in-

flammatoire ou oxydative, comme d'autres auteurs l'ont déjà montré chez des soudeurs [32], et contribue à une meilleure compréhension des mécanismes oxydatifs en relation avec l'exposition professionnelle au Be.

Le niveau le plus élevé des NOx dans le CAE a été trouvé chez les salariés exposés par voie cutanée, et la différence est statistiquement significative comparé au groupe non-exposé. Cependant, aucune exposition professionnelle au Be par voie respiratoire n'a été mise en évidence dans l'entreprise concernée, comme montré par les séries de mesures atmosphériques disponibles au moment du recueil de données. Des publications récentes ont souligné le rôle de l'exposition cutanée aux agents chimiques professionnels et environnementaux dans le développement des maladies pulmonaires. En effet, un passage trans-épidermique des allergènes professionnels comme des isocyanates ou le Be pourrait conduire à une sensibilisation et ultérieurement à des pathologies pulmonaires (asthme, béryllose) après une exposition respiratoire [33]. Malheureusement, dans l'étude actuelle, le test de transformation lymphocytaire n'a pas été réalisé et le statut de sensibilisation au Be des sujets n'était pas connu. Comme l'analyse des liens avec l'exposition ou les effets sur la santé n'a pu être faite, le résultat de l'étude reste purement descriptif.

Le 3-NT a également été mesuré. Il s'agit d'un autre biomarqueur dérivé du NO produit lors du stress nitrosant, dont l'exploration permet de compléter les mécanismes reliant l'inflammation, le stress oxydant et le stress nitrosant. La quantité de 3-NT est inférieure à celle des NOx et le 3-NT n'a été détectable dans aucun échantillon de

l'étude malgré la bonne sensibilité de la méthode analytique.

Le 8-isoprastane (8-IP) est un biomarqueur pertinent de la peroxydation des lipides, classiquement augmenté lors des atteintes pulmonaires et précocement impliqué dans la pathogénèse liée à des expositions professionnelles comme l'amiante [34]. Bien que quantifiées dans tous les échantillons, les valeurs mesurées avoisinent la limite de quantification et il n'a été trouvé aucun lien statistiquement significatif avec des indicateurs d'exposition au Be.

La quantification du Be dans le CAE a été possible pour les sujets exposés aux formes solubles de Be dans le secteur de la production électrolytique de l'aluminium, le niveau de Be étant significativement plus élevé comparé aux non-exposés. Pour un sous-groupe homogène d'exposition (30 sujets), dont le délai depuis la dernière exposition était inférieur à 8 jours, une relation statistiquement significative avec l'indice d'exposition cumulé a été rapportée [35]. Ce résultat suggère l'intérêt de la mesure du Be dans le CAE comme biomarqueur d'exposition, mais nécessite d'être confirmé par d'autres études et dans des populations plus importantes.

Le niveau de Be dans le CAE n'est pas corrélé au niveau de Be dans les urines, et cette absence de corrélation entre les mesures réalisées dans ces deux matrices a été déjà montrée pour le chrome, le cobalt et le tungstène [36, 37]. Les deux types de mesures ne reflétant probablement pas la même information permettrait d'expliquer cette « non corrélation ». Les dosages urinaires intègrent toutes les voies d'exposition, alors que la mesure du Be dans le CAE évalue sa concentration au niveau de l'organe cible - le

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés

poumon, représentant au moins en partie la dose biologiquement active responsable des effets locaux inflammatoires et pro-oxydants. De plus, les différentes concentrations urinaires et pulmonaires du Be dépendent également de sa forme physico-chimique entraînant des cinétiques différentes, de la solubilité et la taille des particules, de sa biopersistence, de la durée et ancienneté de l'exposition, de la latence par rapport à la dernière tâche exposante. Ces aspects sont en cours de clarification.

CONCLUSION

Dans une population de salariés actifs exposée à différentes formes de Be, la durée et l'intensité de l'exposition récente sont associées à certains biomarqueurs de l'inflammation (protéines totales, TNF α) et du stress oxydant (NOx) dans le condensat de l'air exhalé. La quantification du Be dans le CAE a été possible chez les sujets exposés à des formes solubles de Be, avec, pour un sous-groupe dont le délai depuis la dernière exposition est inférieur à 8 jours, une relation statistiquement significative avec l'indice d'exposition cumulée. L'analyse du CAE semble une méthode appropriée à l'étude des agents chimiques toxiques pour le poumon. Elle devrait permettre de contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques au niveau de l'organe cible et apporter des informations complémentaires en termes de toxicocinétique et

d'effets inflammatoires précoces du Be.

Encore réservée à la recherche et nécessitant des études de validation, l'analyse des biomarqueurs dans le CAE pourrait constituer un des éléments de la surveillance des salariés exposés à différentes formes de Be afin d'évaluer la dose interne pulmonaire et les effets au niveau pulmonaire.

Les auteurs remercient les techniciens des départements de recherche de l'INRS, notamment M. Veille et C. Bertrand du département Épidémiologie en entreprise, les salariés volontaires, les entreprises, les médecins du travail et les CARSAT qui ont permis que cette étude puisse être réalisée dans les meilleures conditions. Ils remercient vivement le Dr. F. Pillière, du département Études et assistance médicales de l'INRS, pour sa relecture attentive et ses précieux conseils.

POINTS À RETENIR

- Le recueil du condensat de l'air exhalé (CAE) permet d'analyser l'inflammation du poumon profond, de façon non invasive et utilisable sur le lieu de travail.
- Le CAE représente une matrice prometteuse pour mesurer les biomarqueurs d'exposition et d'effets précoces pulmonaires chez les salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés.
- Le béryllium a été quantifié dans le CAE pour les formes solubles du béryllium et les expositions récentes au béryllium, mais pas pour les formes insolubles ni pour les expositions anciennes.
- Les taux du béryllium dans le CAE et dans les urines ne sont pas corrélés.
- L'effet de l'exposition au béryllium sur des biomarqueurs de l'inflammation et du stress oxydant mesurés dans le CAE diffère selon la forme physico-chimique du béryllium, notamment sa solubilité.
- La durée d'exposition et/ou l'intensité de l'exposition récente au béryllium semblent associées à des marqueurs d'inflammation et du stress oxydant (protéines, oxydes d'azote, *tumor necrosis factor- α*) dans le CAE.
- Encore réservée à la recherche et nécessitant des études de validation, l'analyse des biomarqueurs dans le CAE pourrait contribuer à la surveillance biologique des salariés exposés à différentes formes de béryllium afin d'évaluer la dose interne pulmonaire et les effets au niveau pulmonaire.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 | Balmes JR, Abraham JL, Dweik RA, Fireman E et al. - An official American Thoracic Society statement: diagnosis and management of beryllium sensitivity and chronic beryllium disease. *Am J Resp Crit Care Med.* 2014; 190 (10) : 34-59.
- 2 | Schuler CR, Kitt MM, Henneberger PK, Deubner DC et al. - Cumulative sensitization and disease in a beryllium oxide ceramics worker cohort. *J Occup Environ Med.* 2008; 50 (12) : 1343-50.
- 3 | Marchand-Adam S, Valeyre D - Bérylliose pulmonaire chronique : un modèle d'interaction entre environnement et prédisposition génétique (1^{re} partie). *Minéralogie, toxicologie, épidémiologie et facteurs de risque.* *Rev Mal Respir.* 2005; 22 (2-C1) : 257-69.
- 4 | Marchand-Adam S, Guillon F, Brauner M, Valeyre D - Bérylliose pulmonaire chronique. 2^e partie. Pathogénie, expression clinique, prévention et législation. *Rev Mal Respir.* 2005; 22 (2-C1) : 271-87.
- 5 | Duché JC, Barré J - Le test de transformation lymphocytaire (TTL) ou test de prolifération lymphocytaire (TPL). Dossier médico-technique TC 104. *Doc Méd Trav.* 2005; 103 : 323-26.
- 6 | Newman LS, Mroz MM, Balkissoon R, Maier LA - Beryllium sensitization progresses to chronic beryllium disease. A longitudinal study of disease risk. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171 (1) : 54-60.
- 7 | Rosenberg N - Bérylliose pulmonaire. Fiche d'allergologie-pneumologie professionnelle TR 36. *Doc Méd Trav.* 2005; 105 : 513-21.
- 8 | Müller-Quernheim J, Gaede KI, Fireman E, Zissel G - Diagnoses of chronic beryllium disease within cohorts of sarcoidosis patients. *Eur Respir J.* 2006; 27 (6) : 1190-95.
- 9 | Vincent R, Kauppinen T, Toikkanen J, Pedersen D et al. - CAREX : système international d'information sur l'exposition professionnelle aux cancérigènes en Europe. Résultats des estimations pour la France pendant les années 1990-1993. Note documentaire ND 2113. *Hyg Secur Trav. Cah Notes Doc.* 1999; 176 : 49-58.
- 10 | Recommandations de bonne pratique. Surveillance médico-professionnelle des travailleurs exposés ou ayant été exposés à des agents cancérigènes pulmonaires. Direction générale du travail (DGT), 2015 (www.chu-rouen.fr/sfmt/autres/Argumentaire_201510.pdf).
- 11 | Schuler CR, Kent MS, Deubner DC, Berakis MT et al. - Process-related risk of beryllium sensitization and disease in a copper-beryllium alloy facility. *Am J Ind Med.* 2005; 47 (3) : 195-205.
- 12 | Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel : Le béryllium et ses composés. Avis de l'ANSES. Rapport d'expertise collective. ANSES, 2010 (www.anses.fr/fr/system/files/VLEP-Ra-beryllium.pdf).
- 13 | TTLVs and BEIs based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati : ACGIH; 2010 : 254p.
- 14 | Vincent R, Catani J, Creau Y, Frocaut AM et al. - Occupational exposure to beryllium in French enterprises: A survey of airborne exposure and surface levels. *Ann Occup Hyg.* 2009; 53 (4) : 363-72.
- 15 | Kreiss K, Mroz MM, Newman LS, Martyny J et al. - Machining risk of beryllium disease and sensitization with median exposures below 2 micrograms/m³. *Am J Ind Med.* 1996; 30 (1) : 16-25.
- 16 | Thomas CA, Deubner DC, Stanton ML, Kreiss K et al. - Long-term efficacy of a program to prevent beryllium disease. *Am J Ind Med.* 2013; 56 (7) : 733-41.
- 17 | Aronchik JM, Rossman MD, Miller WT - Chronic beryllium disease: diagnosis, findings, and correlation with pulmonary function tests. *Radiology.* 1987; 163 (3) : 677-82.
- 18 | Rodrigues EG, McClean MD, Weinberg J, Pepper LD - Beryllium sensitization and lung function among former workers at the Nevada test site. *Am J Ind Med.* 2008; 51 (7) : 512-23.
- 19 | Vicens F - Indicateurs biologiques d'effets précoces. Leur utilisation dans la prévention du risque chimique en santé au travail. Grand angle TC 149. *Réf Santé Trav.* 2015; 141 : 23-33.
- 20 | Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving J et al. - Exhaled breath condensate : methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J.* 2005; 26 (3) : 523-48.
- 21 | Minette A - Questionnaire of the European Community for coal and steel (ECSC) on respiratory symptoms. 1987-updating of the 1962 and 1967 questionnaires for studying chronic bronchitis and emphysema. *Eur Respir J.* 1989; 2 (2) : 165-77.
- 22 | Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F et al. - Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* 2005; 26 (2) : 319-38.
- 23 | ATS/ERS Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171 (8) : 912-30.
- 24 | Amemiya T - Regression analysis when the dependent variable is truncated normal. *Econometrica.* 1973; 41 (6) : 997-1016.
- 25 | Garey KW, Neuhauser MM, Robbins RA, Danziger LH et al. - Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest.* 2004; 125 (1) : 22-26.
- 26 | Chow S, Campbell C, Sandrini A, Thomas PS et al. - Exhaled breath condensate biomarkers in asbestos-related lung disorders. *Respir Med.* 2009; 103 (8) : 1091-97.
- 27 | Chow S, Thomas PS, Malouf M, Yates DH - Exhaled breath condensate (EBC) biomarkers in pulmonary fibrosis. *J Breath Res.* 2012; 6 (1) : 1-7.
- 28 | Muccilli V, Saletti R, Cunsolo V, Ho J et al. - Protein profile of exhaled breath condensate determined by high resolution mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2015; 105 : 134-39.

Analyse des biomarqueurs dans le condensat de l'air exhalé dans une population de salariés exposés professionnellement au béryllium et/ou ses composés



29 | KUBÁŇ P, FORET F - Exhaled breath condensate: determination of non-volatile compounds and their potential for clinical diagnosis and monitoring. A review. *Anal Chim Acta*. 2013 ; 805 : 1-18.

30 | MURGIA N, MUSI G, DELL'OMO N, MONTUSCHI P ET AL. - Induced sputum, exhaled breath condensate, and nasal lavage fluid in electroplating workers exposed to chromium. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006 ; 19 (suppl 4) : 67-71.

31 | GUBE M, EBEL J, BRAND P, GOEN T ET AL. - Biological effect markers in exhaled breath

condensate and biomonitoring in welders: impact of smoking and protection equipment. *Int Arch Occup Environ Health*. 2010 ; 83 (7) : 803-11.

32 | BRAND P, GUBE M, GERARDS K, BERTRAM J ET AL. - Internal exposure, effect monitoring, and lung function in welders after acute short-term exposure to welding fumes from different welding processes. *J Occup Environ Med*. 2010 ; 52 (9) : 887-92.

33 | REDLICH CA, HERRICK CA - Lung/skin connections in occupational lung disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 ; 8 (2) : 115-19.

34 | PELCLOVA D, FENCLOVA Z, KACER P, KUZMA M ET AL. - Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress in exhaled breath condensate in subjects with asbestos exposure. *Ind Health*. 2008 ; 46 (5) : 484-89.

35 | HULO S, RADAUCEANU A, CHEROT-KORNOBIS N, HOWSAM M ET AL. - Beryllium in exhaled breath condensate as a biomarker of occupational exposure in a primary aluminium production plant. *Int J Hyg Environ Health*. 2016 ; 219 (1) : 40-47.

36 | GOLDONI M, CAGLIERI A, DE PALMA G, ACAMPA O ET AL. -

Chromium in exhaled breath condensate (EBC), erythrocytes, plasma and urine in the biomonitoring of chrome-plating workers exposed to soluble Cr (VI). *J Environ Monit*. 2010 ; 12 (2) : 442-47.

37 | BRODING H, MICHALKE B, GOEN T, DREXLER H - Comparison between exhaled breath condensate analysis as a marker for cobalt and tungsten exposure and biomonitoring in workers of a hard metal alloy processing plant. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009 ; 82 (5) : 565-73.