

Inventaris en bespreking van patiënten bij wie een lymfocyt proliferatie test tegen Beryllium of andere metalen werd uitgevoerd ter diagnose van longpathologie.

Tine Lauwers
academiejaar 2009 – 2010
Departement Maatschappelijke Gezondheidszorg
Afdeling Arbeids-, Milieu- en Verzekeringsgeneeskunde
Promotor: Prof. Dr. B. Nemery
Co-promotor: Prof. Dr. X. Bossuyt.

Inhoud

1. Inleiding
2. Dossierstudie van patiënten
3. Discussie
4. Conclusies

Inleiding

Mijn thesis ging over:

- Een bloedtest om een overgevoeligheidsrespons tegen berylliumcontact (via huid of inhalatie) in een vroege fase op te sporen bij blootgestelde werknemers, zodat er op lange termijn zich geen chronische berylliumziekte kon ontwikkelen
- De bloedtest heet de “lymfocyt proliferatie test”

Welke vormen van berylliumziekte bestaan er?

- 2 vormen van berylliumziekte:
 - 1) Acute toxische pneumonitis tgv beryllium:
 - Bij massieve, plotse blootstelling aan beryllium
 - Nu zeldzaam, wegens verminderde blootstelling in industrie
 - 2) Chronische beryllium ziekte (CBD)
 - Door blootstelling aan lage concentraties beryllium gedurende maanden tot jaren
 - Ziekte lijkt op sarcoidose (1,2)

Epidemiologie

- Epidemiologie chronic beryllium disease (CBD):
 - Prevalentie in blootgestelde werknemersbevolking 2-16%
 - = hoger dan incidentie van sarcoidose
 - Sinds limiet (2 µg beryllium/m³ TWA) (US Atomic Energy Commission 1949): reductie van CBD

• Conclusies uit de epidemiologie van CBD:

- Belang van gastheerfactoren:
 - immers de meeste (90-95%) blootgestelde werknemers ontwikkelen geen CBD
- De vorm van beryllium blootstelling:
 - vb. beryllium oxide of fijne dampen van verhit metaal geeft hogervoor komen CBD dan koude processing
- Relatie tussen blootstellingsdosis en incidentie van ziekte:
 - vb. machine-operatoren: meer voorkomen van CBD

Pathogenese CBD

- Pathogenese CBD:
 - Vorming niet-verkazende granulomen
 - Vnl. in longen, mogelijk ook in huid, lever, milt, LN, hart, nieren, speekselklieren
 - Meestal ook mononucleaire alveolitis
 - CBD is vermoedelijk een stoornis van celgemedieerde immuniteit

Mogelijk pathogenetische sequens chronic beryllium disease (CBD)

Beryllium wordt gebonden aan een carrier proteïne (mogelijk MHC HLA-DPbeta 1 glu 69) (8)
 Dit beryllium-antigen wordt aan een T-lymfocyt gepresenteerd
 T-lymfocyt zorgt voor clonale proliferatie CD4+ cellen
 Deze zorgen voor vrijzetting cytokines en chemokines
 Dit zorgt voor rekrutering makrofagen, vorming van reuscellen en epitheloïde cellen (fagocytose beryllium door alveolaire makrofagen)
 Dit vormt tot slot een granuloma
 Meerdere granuloma's geven fibrose (1,2)
 Cf. figuur 17-1 (1)

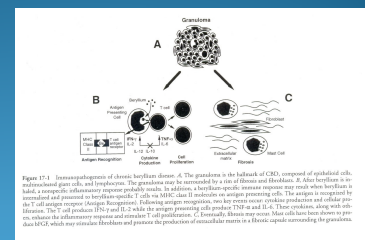


Figure 17-1 Immunopathogenesis of chronic beryllium disease. A, The granuloma is the hallmark of CBD, composed of epithelioid cells, multinucleated giant cells, and lymphocytes. The granuloma may be surrounded by a rim of fibrosis and fibroblasts. B, A beryllium ion (beryllium-specific immunoreactive complex) binds to a carrier protein (HLA-DPbeta 1 glu 69) and is presented to a T cell, leading to clonal proliferation of CD4+ T cells. C, These cytokines, along with chemokines, recruit macrophages and epithelioid cells to form granulomas. The T cell produces IL-2 and IFN-gamma, which stimulate macrophages to produce TNF-alpha and IL-6. These cytokines, along with chemokines, stimulate the inflammatory response and recruit T cell proliferation. C, Granuloma formation may occur. Macrophages form the dense or fibrotic CBD, which may stimulate fibroblasts and prevent the production of normal tissue in a fibrotic scar surrounding the granuloma.

Chronic beryllium disease (CBD)

- Symptomen:
 - Anamnese:
 - Respiratoire symptomen: Dyspnoe en een niet-productieve hoest
 - Systemische klachten: Gewichtsverlies, vermoeidheid, arthralgieën
 - Klinisch:
 - Inspiratoire crepitaties bibasaal
 - Huidletsels, hepatosplenomegalie, lymphadenopathie, clubbing

Chronic beryllium disease (CBD)

- Diagnosemiddelen:
 - RX thorax:
 - diffuse interstitiële infiltraten, milde hilaire adenopathiën
 - Weinig sensitief
 - HRCT: meer sensitief
 - Longfunctietests:
 - zowel obstruct./restrict./gemengd obstr-restr. patroon

- Huidige diagnostische aanpak CBD:
 - 1) Aantonen beryllium-specifieke immuunrespons door Beryllium lymphocyte proliferation test (= onderwerp van mijn thesis)
 - 2) APO:
 - niet verkazende granuloma's of mononucleaire alveolitis
 - bekomen door bronchoscopie met transbronchiale biopsies
 - bevestigt diagnose in 90% van de patiënten

Literatuurstudie LPT tegen Be

- Huidige diagnostische aanpak van CBD (vervolg):
 - Beryllium lymphocyte proliferation test (BLPT)
 - Sensitiviteit en specificiteit?
 - De test obv bloed (lymfocyten) is zeer sensitief (70-94%) en zeer specifiek voor CBD, alsook voor beryllium sensitisatie
 - De test obv BAL (lymfocyten) kan meer sensitief zijn
 - N.B. Wat is het verschil tussen CBD en beryllium sensitisatie?
 - CBD= klinische of pathologische tekens van CBD (vb. longgranuloma's, respiratoire symptomen)
 - Be sensitisatie= aanwezigheid van een cel-gemedieerde, antigen-gedreven immuunrespons op beryllium (d.m.v. BLPT), zonder klinische of pathologische tekens van CBD

Literatuurstudie LPT tegen Be

- Prognose van CBD:
 - Verbetering tot resolutie van de symptomen na blootstellingsstop
- Behandeling van CBD:
 - Onmiddellijke verwijdering uit blootstelling
 - Verder +/- gelijk aan R/ sarcoïdose:
 - Systemische steroidale therapie
 - Rookstop (reden: beryllium is mogelijk longcarcinogeen + evolutie naar COPD voorkomen)

Literatuurstudie LPT tegen Be

- Preventie van CBD:
 - limiet van 2 µg/m³ TWA beschermt niet tegen sensitisatie
- Doel:
 - Preventie van sensitisatie (via huid en longen)
 - Preventie van berylliumopname thv de longen
- Werkgever moet maatregelen treffen:
 - Controles aan de blootstellingsbron
 - Scrupuleus reinigen van de oppervlakten => huidcontaminatie en verspreiding verminderen
 - PBM's voorzien => zo laag mogelijke blootstelling

Dossierstudie van patiënten bij wie de LPT tegen Be of andere metalen is uitgevoerd

Uitgangspunt:

Het centraal labo voor klinische biologie van de UZ GHB bezorgde een lijst van 28 patiënten waarbij, in een arbitraire periode (2002-2007) de LPT is uitgevoerd tegen Beryllium of andere metalen

	Be	Al	Co	Cr	Cd	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Sb	V	Zn
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

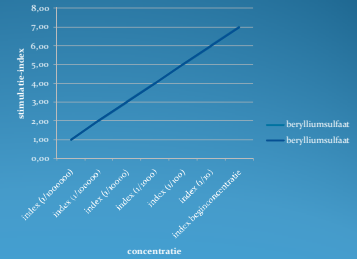
Principes lymphocyte proliferation test (LPT)

- Principe LPT: bij gesensitiseerde personen gaan T-lymfocyten, die een geheugen hebben voor beryllium-(of andere metalen) antigeen, prolifereren wanneer ze in contact gebracht worden met beryllium (of andere metalen)
- Stimulatie-index (SI) = ratio van gemiddelde radioactiviteit van beryllium (of andere metalen)-geëxposeerde celculturen tot de gemiddelde radioactiviteit van niet-geëxposeerde culturen.
- Een test is positief volgens de criteria van de UZ GHB wanneer de SI > of gelijk is aan 5. Bovendien lijkt een redelijke dosisafhankelijkheid aannemelijk. Anderzijds kan er door een hoge concentratie metaal ook een toxisch effect ontstaan

Principes lymphocyte proliferation test (LPT): enkele vbn.

Hieronder, in grafiekvorm een (fictief) voorbeeld van hoe een dosisafhankelijke respons eruitziet bij toenemende concentratie, toenemende stimulatie-index

vb. van dosisafhankelijke respons zonder toxiciteit



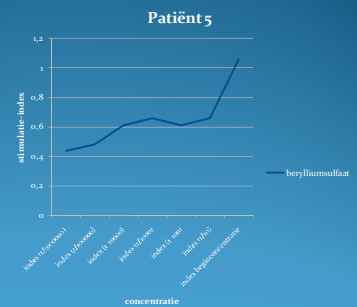
Principes lymphocyte proliferation test (LPT): enkele vbn.

Er zijn 2 patiënten waarbij we een dosisafhankelijke respons zien. Patiënt 1 (45-jarige man, roker, tandtechniker) heeft een dosisafhankelijke respons voor aluminiumsulfat.



Principes lymphocyte proliferation test (LPT): enkele vbn.

Patiënt 5 (64-jarige man, verder geen gegevens) heeft een dosisafhankelijke respons voor berylliumsulfat.



Principes lymphocyte proliferation test (LPT): enkele vbn.

In sommige gevallen ontstaat er bij toenemende concentratie van het metaal een vorm van toxiciteit waarbij de lymfocyten afsterven en de stimulatie-index bij een hoge concentratie metaal daalt.

Hiernaast een (fictief) voorbeeld van hoe een dosisafhankelijke respons met toxiciteit er kan uitzien.

vb. van dosisafhankelijke respons met toxiciteit bij toenemende dosis

Principes lymphocyte proliferation test (LPT): enkele vbn.

Deze vorm van toxiciteit bij toenemende concentratie van het metaal vinden we terug bij patiënt 7 (32-jarige man, niet-roker, ramenmaker (afschuren van aluminium)) voor aluminiumsulfataat.

Patiënt 7

Bespreking van de 28 patiënten

- Professionele gegevens van de 28 patiënten
- Groepering patiënten volgens:
- metaal waaraan blootgesteld is
- Patiënten met een initiële diagnose van sarcoïdose, maar met een verdachte professionele blootstelling
- Patiënten met andere longaandoeningen
- Patiënten met extrapulmonaire ziekten

Mijn bevindingen

- Indien ik de criteria gebruik die op de raadpleging beroepsmatige longziekten worden gebruikt: een stimulatie-index groter dan 5, dan zijn er 14 testen positief (van de 44 in totaal).
- Indien ik de criteria gebruik van andere laboratoria (de Denver groep (11)) die al een positieve test erkennen van zodra de stimulatie-index groter is dan 2, dan zijn er 26 tests positief (van de 44 in totaal).

Metaal	Aantal patiënten met een stimulatie-index groter dan 5	Aantal patiënten met een stimulatie-index groter dan 2
Beryllium	2	3
Aluminium	2	3
ZirconiumCl4	2	2
ZirconiumO4	1	1
Wolfr	2	2
Zink	1	1
Tin	1	1
Chroom	2	3
Nikkel	1	1
Lood	0	1
Totaal	14	26

Discussie

- Klein aantal positieve uitslagen op de LPT's
 - in de literatuur zijn er studies met een veel groter aantal positieve testresultaten.
 - Vermoedelijk is de norm vooropgesteld in de raadpleging beroepsmatige longziekten die bestaat uit een stimulatie-index groter dan 5 (ipv 2) en een dosisafhankelijke respons om een LPT als positief te erkennen te streng.

Discussie

- Klein aantal positieve uitslagen op de LPT's
 - Hier gaat om een retrospectieve studie. Er wordt getest naar aanleiding van wat er uit de professionele anamnese voortkomt van professionele blootstelling aan metalen. Vaak is deze informatie onvolledig en vaak moeilijk te achterhalen.
 - Bijgevolg zijn er mogelijk mensen getest op een overgevoeligheidsrespons op een metaal waar ze weinig mee in contact zijn gekomen en was de test bijgevolg negatief.

Discussie

- Klein aantal positieve uitslagen op de LPT's
 - Be-sensitisatie komt voor bij 2-16% van de blootgestelde werknemers => mogelijk was de onderzochte populatie te klein

Discussie

- Klein aantal positieve uitslagen op de LPT's
 - Reversibiliteit van de LPT
 - Personen die niet meer continu in de blootstelling van het metaal staan (ziekteverlof, pensioen) of diegenen die reeds lang in de blootstelling staan, reageren niet meer zo sterk op de test
 - Dit kan mogelijk een verklaring bieden voor het beperkt aantal positieve uitslagen op de LPT-test.

Discussie

- Beperkingen van de LPT
 - Kostprijs (vnl. beperking bij screeningsprogramma's)
 - Valse resultaten van de LPT
- Intra- en interoperatorvariabiliteit:
 - Nog geen uniform protocol labo's
 - Oplossing: bloedstalen naar verschillende labo's sturen en in elk labo 2x uitvoeren voor meer betrouwbare testresultaten te krijgen en inter- en intralaboratorium variabiliteit te analyseren

Conclusies:

- Wat is de bijdrage van deze thesis?
- De resultaten van de LPT's die in UZ Gasthuisberg zijn uitgevoerd, zijn in kaart gebracht.
- Er is aangetoond dat een goede professionele anamnese onontbeerlijk is voor het aanvragen van de juiste test op het juiste metaal.
- Er is ook aangetoond dat de cut-off waarde voor een positieve LPT-test te streng is in vergelijking met de literatuur.

Conclusies

- Wat is het antwoord op mijn initiële vraagstelling: "Wat is de mogelijke bijdrage van de lymfocyt proliferatietest op bloed tegen Beryllium of andere metalen in de diagnostiek van beroepsmatige longaandoeningen?"
- In de literatuur bestaat er een ruime consensus dat de BeLPT nuttig is als **diagnostische** test:
 - voor het onderscheiden van CBD van sarcoïdose, namelijk bij de differentieel diagnose van granulomateuze longziekten.
 - om uit te maken of een granulomateuze longziekte een beroepsmatige oorzaak heeft t.g.v. berylliumblootstelling. Hierbij is de BeLPT accurater dan spirometrie en beeldvorming.

Conclusies

- Over de zinvolheid van de LPT bij het **screenen** van aan metaal blootgestelde werknemers zijn er **grote vraagtekens**:
 - Enerzijds blijkt niet iedereen met beryllium hypersensitiviteit te evolueren naar een chronische berylliumziekte, dus is screening niet altijd zinvol.
 - Anderzijds heeft de LPT-test ook belangrijke beperkingen (reversibiliteit, inter- en intralaboratorium variabiliteit).
- Op dit moment beveelt het "Biological Exposures Indices Committee" van de "American Conference of Governmental Industrial Hygienists", na analyse van de BeLPT, deze niet aan als biologische indicator om blootstelling en gezondheidsrisico's van werknemers mee op te volgen.