

→ A. Robert, P. Ducos,  
J.M. Francin,  
Département Polluants et santé,  
centre de Lorraine, INRS, Vandœuvre

## BIOLOGICAL MONITORING OF EMPLOYEES EXPOSED TO 4,4'-METHYLENE-BIS-(2-ORTHO-CHLOROANILINE) (MOCA):

A NEW ANALYTICAL TOOL FOR INDUSTRIAL RISK PREVENTION SPECIALISTS. OVERVIEW OF THE CURRENT SITUATION IN FRANCE

In the present article, we describe a new analytical procedure to quantitatively determine 4,4'-methylene-bis-(2-orthochloroaniline) (MOCA) in the urine and we study its applicability in exposure evaluation in polyurethane resins production plants. This substance falls within category 2 of the European legislation (substances which should be regarded as carcinogenic to man) and group 2A of the IARC (substances probably carcinogenic to humans).

To facilitate in France the monitoring of employees exposed to MOCA, we undertook to develop and validate the easiest possible analytical procedure to quantitatively determine this product in the urine, using a single extraction step, followed by an analysis with standard high-performance liquid chromatography equipment. The extraction of urinary MOCA, carried out on Extrelut column with isooctane, was very efficient and easy to automate, with an average extraction efficiency of 94% for a urinary range extending from 5 to 500 µg/l. The analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC) with series UV and electrochemical detection was simple and highly selective, with detection thresholds of 1 µg/l and 0.1 µg/l respectively. The addition of sulfamic acid to the urine stabilised MOCA at ambient temperature and improved the reproducibility of the analysis on spiked urine and the urine of exposed employees. The analysis of 103 post-shift urinary samples from 40 employees of four French companies showed that the situation remains worrying, with the selective and average excretions over three consecutive working days reaching as high as 356 and 570 µg/l respectively. The highest urinary excretions of MOCA were observed in operators in daily (mixers) or occasional (maintenance staff) contact with crystallised MOCA. The analysis of MOCA in urine acidified by the addition of sulfamic acid at the time of collection turned out to be a good compromise to assess occupational exposure to MOCA. More reliable than the analysis of the free MOCA obtained from non-acidified urine, it was also easier than the analysis of the total MOCA obtained from hydrolysed urine.

Today, with regard to the current technical possibilities of French companies, a post-shift urinary MOCA concentration not exceeding 20 µg/l would appear a reasonable objective, particularly for operators potentially exposed to crystallised MOCA. This value could be proposed for the establishment of a biological guide value applicable in France.

● 4,4'-methylene-bis-(2-orthochloroaniline)  
● MOCA ● liquid-solid extraction ● HPLC ● occupational exposure ● biological monitoring ● guide value

# Surveillance biologique des salariés exposés à la 4,4'-méthylène-bis-(2-chloroaniline) (MOCA)

## Un nouvel outil analytique pour les préventeurs industriels. État de la situation actuelle en France

Dans cet article, nous décrivons une procédure analytique originale de dosage de la 4,4'-méthylène-bis-(2-orthochloroaniline) (MOCA) urinaire, et étudions sa pertinence dans l'évaluation des expositions dans les filières industrielles mettant en œuvre des résines polyuréthannes. Cette substance est classée en catégorie 2 de la Réglementation européenne (devant être assimilée à un cancérigène chez l'homme) et 2A par le CIRC (cancérigène probable).

Pour faciliter en France le suivi des salariés exposés à la MOCA, nous avons entrepris de développer et valider un protocole d'analyse de ce produit dans l'urine le plus simple possible, nécessitant une seule étape d'extraction de l'échantillon urinaire, et du matériel de chromatographie liquide à haute performance conventionnel. L'extraction de la MOCA urinaire, sur colonne Extrelut avec de l'isooctane, se révèle très efficace et facilement automatisable, avec un rendement d'extraction moyen de 94 % pour une gamme urinaire allant de 5 à 500 µg/l. L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec détection UV et électrochimique en série est simple et hautement sélective, avec des seuils de détection respectifs de 1 et 0,1 µg/l. L'ajout d'acide sulfamique dans l'urine permet de stabiliser la MOCA à température ambiante, et améliore la reproductibilité de l'analyse sur des urines surchargées et des urines de salariés exposés.

L'analyse de 103 urines de fin de poste appartenant à 40 salariés de quatre entreprises françaises montre que la situation actuelle en France reste préoccupante, avec des excretions moyennes et ponctuelles durant trois jours de travail consécutifs pouvant atteindre respectivement 356 et 570 µg/l. Les excrétions en MOCA urinaire les plus élevées sont observées chez les opérateurs qui sont en contact quotidien (mélangeurs) ou ponctuel (agents de maintenance) avec la MOCA cristallisée. L'analyse de la MOCA sur des urines rendues acides par l'ajout d'acide sulfamique au moment du recueil, se révèle être un bon compromis pour évaluer les expositions professionnelles à la MOCA. Plus fiable que l'analyse de la MOCA libre obtenue sur les urines non acidifiées, elle est aussi plus simple que l'analyse de la MOCA totale obtenue sur les urines hydrolysées.

Aujourd'hui, au regard des possibilités techniques actuelles des entreprises françaises, une concentration de 20 µg/l de MOCA à ne pas dépasser dans les urines de fin de poste semble un objectif raisonnable, spécialement pour les opérateurs potentiellement exposés à la MOCA cristallisée. Cette valeur pourrait être proposée pour l'établissement d'une valeur-guide biologique française.

● 4,4'-méthylène-bis-(2-orthochloroaniline) ● MOCA ● extraction liquide-solide ● HPLC ● exposition professionnelle ● surveillance biologique ● valeur-guide

La 4,4'-méthylène-bis-(2-orthochloroaniline) (MOCA) est principalement utilisée comme agent de réticulation dans la fabrication d'élastomères ou de mousses polyuréthannes à hautes performances. Introduite en Europe et notamment en France dans le milieu des années 60, cette amine aromatique chlorée a fait, depuis, l'objet de nombreuses études internationales en raison de son pouvoir cancérigène [1 à 7], mutagène [8] et génotoxique [9] détecté chez l'animal. La MOCA est classée en catégorie 2 de la Réglementation européenne, comme substance « devant être assimilée à

une substance cancérigène chez l'homme » [10] et en catégorie 2A par le Centre international de recherches sur le cancer (CIRC) (1), impliquant un « risque cancérigène probable chez l'homme » [11, 12]. Le décret du 6 novembre 1995 place la MOCA dans le tableau 15ter des maladies professionnelles, relatif aux substances susceptibles de provoquer des lésions malignes de la vessie (2).

(1) CIRC/IARC : 150 cours Albert-Thomas, 69372 Lyon cedex 08. Site web : [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr).

(2) In : Les maladies professionnelles. Paris, INRS, 2000, ED 835, 340 p.

En 1988, Ward et coll. ont observé des cancers de la vessie chez deux jeunes travailleurs exposés à la MOCA [13], et plus récemment, Edwards et Priestly ont montré (1992) que la présence de MOCA dans les urines est associée à des perturbations génétiques, à la fois chez l'homme et chez l'animal [14].

En France, la potentialité cancérigène des amines aromatiques de la famille du diphénylméthane attirait déjà l'attention en 1973 [15], et une mise au point sur la toxicité de la MOCA, son emploi et les mesures de prévention à adopter a été réalisée en 1981 [16].

En raison de la très faible volatilité de la MOCA et de son aptitude à traverser la barrière cutanée, la détermination de la MOCA urinaire est, aujourd'hui, considérée comme le meilleur moyen d'assurer le suivi des expositions professionnelles, en permettant de tenir compte de toutes les voies de pénétration possibles (pulmonaire, percutanée et orale) [17 à 23].

Depuis 1971, de nombreuses techniques analytiques, plus ou moins sophistiquées, ont été décrites pour doser la MOCA urinaire [24 à 37].

Au début des années 80, l'INRS a mis au point une méthode originale de dosage de la MOCA dans les urines, reposant sur l'usage d'un détecteur à photoconductivité pour chromatographie liquide à haute performance [38]. Les résultats des études de terrain qui ont suivi [37], repris par le CIRC dans sa monographie sur la MOCA de 1992 [12], ont permis à l'INRS :

- de mieux connaître les conditions d'utilisation de cette amine en France,
- et de prendre une part non négligeable dans la connaissance des niveaux d'exposition professionnelle rencontrés chez les salariés exposés.

A cette époque, les interventions en entreprise avaient malheureusement montré des conditions de mise en œuvre déplorables dans certaines entreprises, entre autres, à une méconnaissance totale du risque par les salariés. Alertée, la Caisse nationale de l'Assurance maladie des travailleurs salariés a édité en 1983 une recommandation sur la manipulation et l'utilisation de la MOCA, dans laquelle elle propose entre autres, la pratique du contrôle biologique de l'excrétion urinaire chez les travailleurs des entreprises utilisatrices de cette amine [39].

La sensibilisation des salariés au risque MOCA et la mise en œuvre de mesures

préventives simples se sont traduites par une diminution considérable des niveaux excrétés en MOCA urinaire chez les salariés de plusieurs entreprises, suivis par l'INRS de 1980 à 1985.

Cependant, il semble qu'en France, le suivi des salariés exposés à la MOCA, comme le préconisent la Recommandation de la CNAMTS, ainsi que l'arrêt du 5 avril 1985, ne soit plus réalisé, ou seulement de façon très ponctuelle.

L'utilisation d'un détecteur à photoconductivité, d'un usage peu fréquent et la complexité des méthodes analytiques publiées à l'époque dans la littérature spécialisée n'ont pas incité les laboratoires d'analyses en hygiène industrielle à pratiquer le dosage de la MOCA urinaire, et permettre à la médecine du travail d'effectuer un suivi régulier des salariés exposés [40].

Conscients de ce problème et pour relancer en France la surveillance des salariés exposés à la MOCA, nous avons entrepris de mettre au point une méthode d'analyse de la MOCA urinaire reposant sur du matériel conventionnel, adaptée à des analyses de routine et facilement transposable dans les laboratoires d'analyses qui seraient sollicités par la médecine du travail.

Cette étude décrit un protocole analytique original de dosage de la MOCA urinaire, testé et validé chez 11 salariés d'une entreprise française manipulant de la MOCA utilisée dans la mise en œuvre de résines polyuréthanes.

De plus, nous dresserons le bilan de la situation actuelle dans différentes entreprises françaises fabriquant des résines polyuréthanes à base de MOCA, déjà sensibilisées et averties du danger potentiel de cette amine aromatique. Une valeur guide biologique française pour la MOCA sera également proposée.

## 1. Protocole analytique

L'expérience acquise par l'INRS dans le dosage urinaire d'une autre amine aromatique, la 4,4'-méthylènedianiline (MDA), amine de structure apparentée à celle de la MOCA [41, 42] et utilisée comme durcisseur de résines époxydiques, polyimides et polyuréthanes, nous a permis de mettre au point un protocole particu-

lièrement simple et spécifique, adapté à des analyses de routine [43].

### 1.1. Recueil et conservation de l'échantillon urinaire

Les échantillons urinaires sont recueillis en fin de poste, sur plusieurs jours consécutifs d'une semaine de travail, chez des salariés volontaires potentiellement exposés à la MOCA.

Quel que soit le volume recueilli, l'échantillon urinaire est acidifié avec un gramme d'acide sulfamique placé dans un flacon de 100 ml en polyéthylène basse densité. L'ajout d'acide sulfamique, acide fort et solide à température ambiante, s'est révélé supérieur à l'ajout d'acide citrique conseillé par Linch et coll. en 1971 [17] et repris par l'INRS en 1983 [38]. L'acidification des urines permet de stabiliser la MOCA urinaire et ses métabolites à un pH de l'ordre de 2. Pour s'affranchir de toute évolution de l'amine et de ses métabolites, il est néanmoins conseillé de stocker les urines à - 20 °C jusqu'à leur analyse ; à défaut, une conservation à 4 °C au réfrigérateur peut être envisagée si leur traitement est réalisé dans les deux semaines qui suivent le recueil. L'acide sulfamique, en raison de sa forme cristallisée, est d'un emploi pratique et peu dangereux pour le salarié lors du recueil urinaire et pour le médecin du travail, lors du transport ou de l'envoi des flacons. De plus, il permet le transfert aisé des échantillons urinaires au laboratoire d'analyse, sans l'utilisation de containers isothermes et avec comme seul impératif de limiter autant que faire se peut leur séjour à température ambiante ; en effet, avec l'acide sulfamique, nous n'avons pas constaté d'évolution notable de la MOCA et des ses métabolites acétylés dans des urines conservées plusieurs jours à température ambiante.

### 1.2. Traitement de l'échantillon urinaire (fig. 1)

Une partie aliquote du recueil urinaire (20 ml), placée dans une tube à essai en verre borosilicaté de 40 ml, est rendue basique par l'ajout de quatre pastilles de soude (environ 1 gramme). Après dissolution complète de la soude par vortexage, l'urine est déposée sur une cartouche Extrelut 20® (Merck), équipée d'une canule d'écoulement. Cette colonne remplie d'une terre siliceuse de structure granuleuse et d'un volume de pores élevé, chimiquement inerte, remplace avantageuse-

ment l'extraction liquide-liquide classique avec une ampoule à décanter, permettant un gain de temps et de solvant, avec des taux d'extraction plus élevés et des éluats plus purs (pas de phénomène d'émulsion avec les urines). Ce procédé est particulièrement bien adapté aux analyses en série, car l'éluat se fait de façon entièrement automatique. Récemment, pour des exigences de pureté plus élevées, Merck a remplacé ses colonnes Extrelut 20<sup>®</sup> par des colonnes Extrelut NT20<sup>®</sup>, qui après vérifications, se sont révélées pour le moins aussi efficaces que leurs devancières.

Après une durée d'imprégnation de 15 à 20 min de l'urine sur la « phase Extrelut », l'éluat est réalisée avec 50 ml d'isooctane Uvasol<sup>®</sup> (Merck). Le volume mort de la colonne étant d'environ 15 ml, 30 à 35 ml d'éluat organique totalement exempt d'émulsion sont recueillis dans un tube à essai de verre borosilicaté 20 x 150 mm. L'isooctane s'est révélé être un solvant particulièrement sélectif pour séparer quantitativement la MOCA des autres constituants de l'urine, contrairement au diéthyl éther (utilisé pour le dosage de la MDA urinaire) et à d'autres solvants, comme le dichlorométhane ou des mélanges dichlorométhane/méthanol.

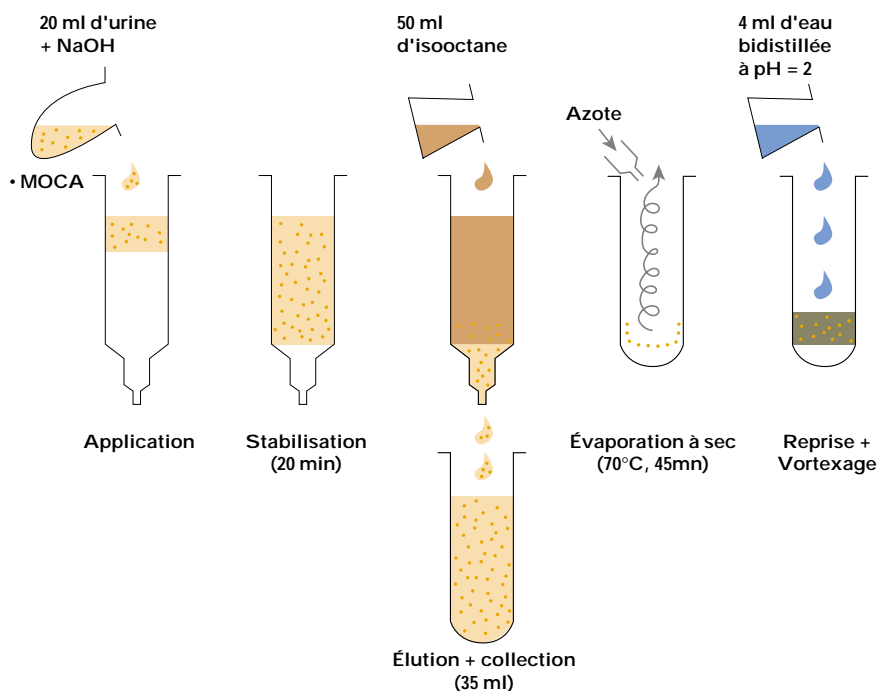
La *figure 2* montre les chromatogrammes obtenus à partir d'une urine surchargée à 100 µg/l avec de la MOCA et extraite respectivement avec 50 ml de diéthyl éther et 50 ml d'isooctane. Avec l'éther, le chromatogramme est beaucoup plus perturbé en début d'analyse, avec un épaulement sur la base du pic de MOCA qui peut se révéler gênant pour la quantification de cette dernière. De plus, sur des urines de salariés exposés, où les composés présents dans l'urine pouvant coéluer avec la MOCA sont beaucoup plus nombreux, l'isooctane a toujours permis de quantifier la MOCA urinaire en s'affranchissant d'une extraction solide-liquide supplémentaire, ce qui n'était pas le cas pour le dosage de la MDA urinaire.

Après récupération d'environ 35 ml d'éluat, ce dernier est amené à sec sous flux d'azote à l'aide d'un évaporateur à effet vortex (Zymark, Turbovap LV<sup>®</sup>). Avec une température du bain-marie réglée à 70 °C, cette opération dure environ 45 minutes.

Le résidu sec est alors repris avec 4 ml d'eau bidistillée préalablement ajustée à pH 2 avec une solution d'acide chlorhydrique 1 N (ce qui correspond à une

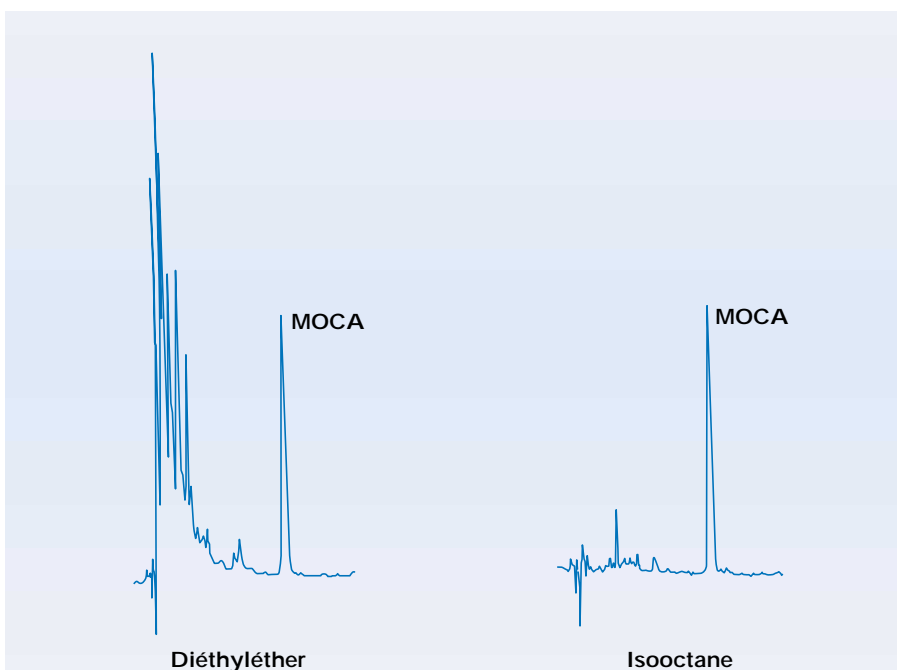
**Fig. 1. Protocole d'extraction de la MOCA**

*- Clean-up treatment for the extraction of MOCA from urinary matrix*



**Fig. 2. Chromatogrammes HPLC-UV d'extraits urinaires après un ajout dosé à 100 µg/l. Extraction avec du diéthyl éther ou de l'isooctane**

*- Typical HPLC-UV chromatograms of extracts from spiked urine sample at 100 µg/L. Clean-up urine sample with diethylether or isooctane*



concentration par 5 de l'échantillon urinaire de départ) et agité au vortex pendant 30 secondes. L'ajout d'acide, en facilitant le passage de la MOCA sous forme ionisée, permet d'optimiser sa récupération dans la phase aqueuse.

Une partie aliquote de l'extrait aqueux obtenu est alors placée dans un flacon ambré de 4 ml avec un bouchon muni d'un septum de silicone/téflon, puis stockée à 4 °C jusqu'à l'analyse. Dans ces conditions, nous n'avons pas observé d'évolution de l'extrait aqueux durant plusieurs mois de conservation.

### 1.3. Analyse

Elle est réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec le matériel suivant :

- une pompe haute pression Shimadzu LC-10AS<sup>®</sup>,
- un passeur d'échantillons automatique Waters Wisp 717+<sup>®</sup>,
- un détecteur ultraviolet (UV) Waters 486<sup>®</sup>, calé à la longueur d'onde de 244 nm,
- un détecteur électrochimique Waters 460<sup>®</sup>, utilisé en mode oxydation (0,9 V) avec une électrode de référence Ag/AgCl
- une station d'acquisition et de traitement équipée du logiciel Maxima 820<sup>®</sup> (Waters).

L'analyse est réalisée en mode isocratique à température ambiante avec un débit d'élution de 1 ml/min, sur une colonne (longueur 250 mm, diamètre interne 4 mm), remplie de silice 5 µm Lichrosphère 60 RP Select B C8<sup>®</sup> (Merck), adaptée à l'analyse des composés basiques. L'éluant est un mélange binaire d'acétonitrile et d'eau déionisée MilliQ<sup>®</sup> (Millipore), 50/50 en volume additionnée, à 0,4 %, d'une solution aqueuse d'acétate de sodium ajustée à pH 4,6 avec de l'acide acétique.

Les déterminations de concentration sont effectuées par étalonnage externe sur une gamme d'urines étalons, prélevées sur des personnes non exposées à la MOCA, acidifiées dans un premier temps avec de l'acide sulfamique (10 g/l), puis surchargées à des concentrations de MOCA allant de 5 à 500 µg/l et soumises au protocole d'extraction et de concentration (cf. § 1.2).

Les résultats des analyses, exprimés en microgrammes de MOCA par litre d'urine (µg/l), le sont également en microgrammes de MOCA par gramme de créatinine (µg/g).

Les tracés chromatographiques présentés dans cet article ont été réalisés sur un intégrateur-enregistreur Spectra-Physics SP4290<sup>®</sup>, sauf celui de la figure 3, qui a été tracé avec le logiciel d'acquisition Maxima 820<sup>®</sup>.

L'utilisation d'un détecteur électrochimique plus sensible placé en aval du détecteur UV n'est pas obligatoirement nécessaire pour des analyses de routine, mais s'avère néanmoins intéressante. Elle permet de s'affranchir d'éventuelles interférences entre des composés hypothétiques dotés de caractéristiques identiques à celles de la MOCA, confirmer les résultats obtenus en UV, en particulier pour les faibles valeurs en MOCA urinaire, et quantifier les excréctions inférieures à la limite de détection UV.

### 1.4. Critères de validation de la méthode

Linéarité, fidélité (répétabilité et reproductibilité intra-laboratoire), exactitude et seuil de détection

Les critères de validation de la méthode (protocole d'extraction et analyse) ont été obtenus sur des pools d'urine où la MOCA n'est pas détectée, amenés à un pH de l'ordre de 2 avec l'ajout d'acide sulfamique (10 g/l) et dans lesquels ont été effectués des ajouts dosés de MOCA à partir d'une solution mère méthanolique à 1 g/l [43]. Pour chaque pool d'urine, 20 ml d'urine sont extraits et analysés selon le protocole décrit ci-dessus.

La linéarité, la répétabilité et l'exactitude de la méthode analytique ont été étudiées sur une gamme de 7 groupes de 6 extractions correspondant à des urines surchar-

gées avec de la MOCA à 5 ; 10 ; 20 ; 50 ; 100 ; 250 et 500 µg/l, extraites et analysées le même jour.

Les courbes de calibration entre hauteurs de pic et concentrations de MOCA dans l'urine sont linéaires sur l'intervalle de concentrations étudié, avec des coefficients de corrélation plus grands que 0,999.

La reproductibilité intra-laboratoire (fidélité intermédiaire) a été étudiée sur des urines surchargées à trois niveaux de concentration en MOCA différents (10, 100 et 500 µg/l), extraites durant 4 jours successifs par le même opérateur et analysées avec le même système chromatographique.

L'ensemble des données relatives à la répétabilité et à la reproductibilité du dosage de la MOCA dans l'urine est porté dans le *tableau I*. Les valeurs du coefficient de variation de l'étude de répétabilité sont inférieures à 5 %, sauf pour la concentration à 5 µg/l, où il atteint 5,6 %. La reproductibilité intra-laboratoire est également satisfaisante, avec un coefficient de variation de 7,3 % pour une urine surchargée avec 10 µg/l de MOCA (cf. *tableau I*).

D'autre part, pour obtenir une évaluation du rendement d'extraction absolu, une gamme d'étalonnage non biologique (solution aqueuse), préparée avec la même solution mère que la gamme d'étalonnage urinaire et avec les sept mêmes niveaux de concentrations en MOCA a été réalisée et répliquée trois fois. Ainsi, pour les 7 niveaux de concentrations en MOCA étudiés, le taux de récupération absolu (rendement d'extraction) a été calculé en comparant chacune des réponses de la gamme d'étalonnage urinaire avec la

TABLEAU I

RÉPÉTABILITÉ ET REPRODUCTIBILITÉ DE LA MÉTHODE DE DOSAGE DE LA MOCA URINAIRE  
REPEATABILITY AND REPRODUCTIBILITY OF THE ANALYTICAL METHOD  
TO DETERMINE URINARY MOCA

CONCENTRATIONS AJOUTÉES (µg/l)	RÉPÉTABILITÉ (N = 6)		REPRODUCTIBILITÉ (N = 4)	
	CONCENTRATIONS CALCULÉES (µg/l)	CV %	CONCENTRATIONS CALCULÉES (µg/l)	CV %
5	5,0 ± 0,3	5,6		
10	10,1 ± 0,3	3,4	9,4 ± 0,7	7,3
25	24,9 ± 0,8	3,5		
50	50,3 ± 1,2	2,4		
100	97,4 ± 1,9	2,0	93,5 ± 4,9	5,2
250	242,3 ± 4,2	1,8		
500	520,8 ± 6,5	1,3	506,1 ± 14,9	3,0

moyenne des réponses de la gamme d'étalonnage aqueuse correspondante et représentant un rendement d'extraction de 100 %. Le rendement moyen d'extraction de la MOCA urinaire est de 94 %, avec un CV de 3,4 %.

Le seuil de détection en mode UV est estimé sur la base de la moyenne et des écarts types des ordonnées à l'origine obtenus pour les 6 droites de calibration réalisées (selon Miller et Miller [44]). Pour une injection de 20 µl, on obtient un seuil de détection de la MOCA dans l'urine de 1 µg/l. La *figure 3* montre un chromatogramme typique obtenu à partir d'une urine de personne non exposée à la MOCA, surchargée au niveau du seuil de détection (1 µg/l) et extraite selon le protocole décrit.

La détection électrochimique, avec un seuil de détection estimé visuellement à 0,1 µg/l permet de quantifier les excréctions lorsque les niveaux en MOCA urinaire sont inférieurs au µg/l.

#### Application de la méthode à des urines de salariés exposés à la MOCA

Afin de mettre en œuvre une surveillance biologique des personnes exposées professionnellement à la MOCA, la méthode de dosage de la MOCA dans l'urine présentée ici et validée sur des urines surchargées a été testée sur les urines de onze salariés travaillant à la fabrication de résines polyuréthanes à base de MOCA, et dix salariés non potentiellement exposés à l'amine aromatique.

La sélectivité de la méthode d'extraction et d'analyse, c'est-à-dire sa capacité à distinguer la MOCA d'autres composés endogènes de l'urine susceptibles d'interférer dans les conditions de l'analyse, a été évaluée de plusieurs façons.

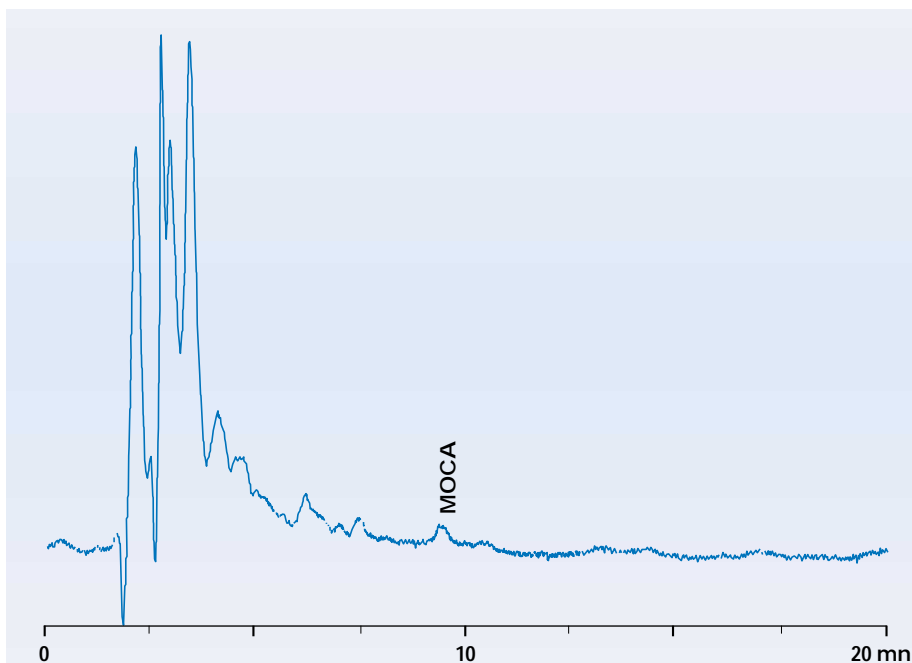
Tout d'abord, l'analyse des urines de contrôle (N = 10) ne montre aucune interférence au temps de rétention de la MOCA, que ce soit en mode UV au niveau du µg/l ou en mode électrochimique, au niveau de la centaine de nanogrammes par litre (ng/l).

Pour les 32 échantillons urinaires appartenant aux 11 salariés exposés, le pic de MOCA est aisément quantifiable, là encore sans interférence significative avec les deux types de détection utilisés. Pour illustrer l'efficacité de la méthode proposée, la *figure 4* montre des chromatogrammes UV typiques obtenus à partir d'extraits d'urines de salariés professionnellement exposés ou non à la MOCA.

De plus, la comparaison des deux

**Fig. 3. Chromatogramme HPLC-UV d'un extrait d'une urine surchargée avec de la MOCA au niveau du seuil de détection (1 µg/l)**

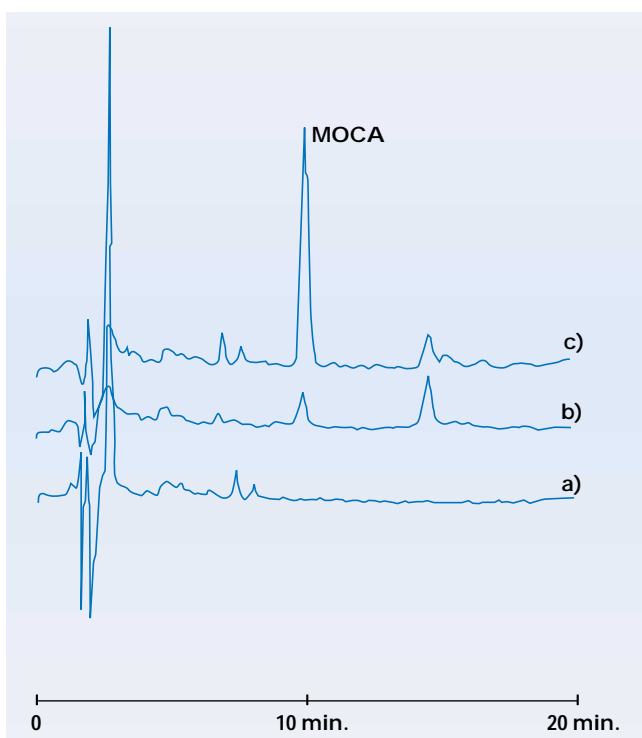
- HPLC-UV Chromatogram of extract from spiked urine sample with MOCA at the limit of detection (1 µg/l)



**Fig. 4. Superposition de 3 chromatogrammes HPLC-UV d'extraits urinaires**

- a) Opérateur témoin non exposé à la MOCA ;  
b) et c) Opérateurs potentiellement exposés à la MOCA.  
Urines respectivement à 4 et 30 µg/l

- Superimposition of three chromatograms HPLC-UV from urinary extracts  
a) Control worker with no occupational exposure to MOCA; b) and c) Workers potentially exposed to MOCA. Urines at 4 and 30 µg/l respectively



modes de détection utilisés montre qu'il existe, pour les valeurs urinaires supérieures ou égales au  $\mu\text{g/l}$ , une bonne corrélation entre les concentrations de MOCA urinaire mesurées en mode UV ou électrochimique, avec une droite de régression de pente proche de 1 et un coefficient de corrélation supérieur à 0,999. La similitude des résultats est un gage supplémentaire d'une bonne sélectivité de la méthode d'extraction.

La reproductibilité de l'analyse décrite dans cet article a également été étudiée sur des pools d'urines de salariés professionnellement exposés à la MOCA. Les coefficients de variation sont comparables à ceux obtenus sur les urines surchargées (cf. tableau I) avec, pour un niveau de concentration de  $100 \mu\text{g/l}$  en MOCA, des valeurs respectives de 5,2 % (N = 4) et 6,4 % (N = 7).

A noter également, que la colonne et les conditions analytiques utilisées permettent de traiter un extrait urinaire en 20 minutes sans apparition de pics à des temps de rétention plus élevés, critère appréciable lorsque l'on veut travailler en routine et en mode isocratique.

Pour l'analyse des échantillons urinaires fortement chargés en MOCA ( $> 100 \mu\text{g/l}$ ), une dilution des extraits urinaires correspondants avec de l'eau bidistillée est réalisée afin de rester dans le domaine de linéarité de la méthode analytique.

Chez les salariés exposés, les concentrations en MOCA urinaire mesurées en mode UV dans les échantillons prélevés en fin de poste varient de  $1 \mu\text{g/l}$  (limite de détection) à  $570 \mu\text{g/l}$ .

## 2. Exposition professionnelle : résultats et commentaires

### 2.1. Entreprises et types d'exposition

Des campagnes de suivi biologique avec prélèvements d'urines durant plusieurs jours consécutifs, ont été réalisées dans 4 entreprises fabriquant des résines polyuréthanes à base de MOCA, avec le concours des médecins du travail et des Caisses régionales d'assurance maladie (CRAM) [45].

Ainsi, 103 échantillons urinaires appartenant à 40 salariés ont été prélevés en fin de poste par une équipe INRS dans des flacons en polyéthylène de 100 ml conte-

nant 1 gramme d'acide sulfamique. Les salariés volontaires suivis occupent des postes à tous les niveaux de la chaîne de fabrication, et ne sont donc pas tous, a priori, exposés directement à la MOCA cristallisée et/ou à la résine en cours de polymérisation.

Très schématiquement, la fabrication de la résine MOCA consiste à mélanger à chaud une partie A, composée de prépolymères isocyanate-polyol, et une partie B contenant la MOCA pure sous forme cristallisée, amenée à l'état liquide par chauffage. Le mélange, délivré par une machine automatique, est utilisé pour remplir des moules qui seront placés dans une étuve (cuisson) pour permettre la polymérisation totale de l'élastomère polyuréthane.

Quatre grandes catégories de salariés ont été suivies : les mélangeurs (chefs-machine), les mouleurs, les opérateurs de maintenance et une catégorie regroupant les ébarbeurs, les opérateurs affectés au conditionnement, le personnel d'encadrement, c'est-à-dire tous les salariés qui ne sont pas en contact direct avec la MOCA cristallisée et/ou avec la résine en cours de polymérisation.

Chaque salarié suivi a également rempli, en collaboration avec un agent INRS, une fiche de poste journalière. Des renseignements tels que la quantité de MOCA utilisée, le nombre de moules remplis, les méthodes de travail, le port ou non de protections individuelles s'avèrent souvent très utiles pour expliciter certains résultats et mettre à l'index certaines opérations particulières.

Les urines ont été stockées à  $- 20 \text{ }^\circ\text{C}$  immédiatement après le recueil, extraites et analysées en différé à l'INRS selon le protocole décrit au chapitre 1 (« Protocole analytique »). Une partie aliquote du recueil est placée dans un tube Eppendorf pour permettre l'analyse du taux de créatinine par la méthode de Jaffé [46], analyse réalisée par le laboratoire « Surveillance biologique des substances inorganiques » (SBSI) de l'INRS.

L'analyse statistique des résultats est réalisée grâce au logiciel Statgraphics Plus® (Manugistics, Rockville, USA). Tous les tests sont appliqués au seuil de significativité de 5 %. Une analyse de la variance (ANOVA) est effectuée pour comparer les 4 entreprises entre elles, et le test non paramétrique de Mann-Whitney pour l'étude deux à deux des postes de travail.

Comme il existe une bonne corrélation

entre les résultats obtenus avec la détection UV et les résultats obtenus avec la détection électrochimique, l'analyse de résultats s'appuie essentiellement sur les valeurs obtenues en UV, et les valeurs inférieures à la limite de détection ( $1 \mu\text{g/l}$ ) sont prises en compte en divisant cette limite par deux [47, 48].

L'analyse globale des résultats montre que les niveaux moyens excrétés par les salariés (N = 40), compris entre  $0,5 \mu\text{g/l}$  ( $0,5 \mu\text{g/g}$  de créatinine) et  $356 \mu\text{g/l}$  ( $376 \mu\text{g/g}$  de créatinine) avec une moyenne arithmétique de  $55 \mu\text{g/l}$  ( $35 \mu\text{g/g}$  de créatinine), se distribuent plutôt selon une loi log-normale avec une moyenne géométrique de  $13,2 \mu\text{g/l}$  ( $8,9 \mu\text{g/g}$  de créatinine) proche de la médiane à  $12,5 \mu\text{g/l}$  ( $9,0 \mu\text{g/g}$  de créatinine).

### 2.2. Présentation par entreprise

Les quatre entreprises suivies utilisent de la MOCA cristallisée sous forme de granulés conditionnés en fûts de 50 kilos, pour fabriquer des résines polyuréthanes selon le protocole décrit au § 2.1. Seuls, la mise en œuvre des matières premières, les protections de travail, l'état général des ateliers et leur organisation diffèrent.

Le *tableau II* présente les résultats des analyses urinaires effectuées (N = 103) dans les quatre entreprises visitées.

Pour les entreprises A, B et C, où le nombre de salariés suivis durant trois jours consécutifs est pratiquement identique, une analyse de la variance fait apparaître que l'entreprise B diffère statistiquement des deux autres, avec une moyenne arithmétique de  $8 \mu\text{g/l}$  ( $4 \mu\text{g/g}$  de créatinine), soit environ de 13 et 9 fois inférieure aux moyennes obtenues respectivement dans les entreprises A et C.

Le chargement des réacteurs avec la MOCA cristallisée réalisé dans une trémie ventilée, construite selon le principe des boîtes à gants, pourrait expliquer cette baisse observée des niveaux moyens excrétés, en limitant au maximum les contacts cutanés avec la MOCA cristallisée, mais également le dégagement de poussières de MOCA au niveau du poste de travail, voire dans tout l'atelier. De plus, au moment de la campagne de suivi biologique, l'entreprise B venait d'intégrer de nouveaux locaux, donc certainement exempts de toute pollution (accidentelle ou non) par la MOCA.

Thomas et Wilson en 1984 [19] et Ward et coll. en 1986 [20] avaient également montré dans leurs études respectives, que

L'aménagement des postes de chargement de la MOCA cristallisée était un point crucial pour réduire les expositions.

### 2.3. Présentation par poste de travail

L'analyse statistique des résultats par poste de travail est intéressante, car elle confirme que les plus fortes excrétions sont mesurées chez les salariés a priori les plus exposés à la MOCA cristallisée et/ou à la résine non polymérisée, les taux les plus faibles étant mesurés dans les situations de faible exposition. Les excrétions journalières de fin de poste, si elles sont liées à la manipulation potentielle de MOCA et/ou de résine non polymérisée, sont avant tout imputables à l'organisation du travail propre à chaque entreprise, mais également aux habitudes de travail acquises par chaque opérateur. Cette observation est généralisable à tous les toxiques à pénétration percutanée prépondérante, pour lesquels on n'observe généralement pas de corrélation entre quantité de produit utilisé et concentration urinaire excrétée. Ainsi, pour la 4,4'-méthylènedianiline (MDA), une autre amine aromatique étudiée à l'INRS, Cocker et coll. en 1994 [49] ont montré qu'il n'existait pas de corrélation entre quantité de MDA utilisée et concentration de MDA urinaire excrétée.

Les statistiques descriptives pour chaque catégorie de poste sont présentées dans le [tableau III](#).

Comme attendu, les excrétions moyennes les plus élevées se retrouvent chez les opérateurs chefs-machine (mélangeurs) qui sont potentiellement exposés à la MOCA cristallisée lors des chargements des réacteurs. Avec une médiane de 82 µg/l (49 µg/g de créatinine), cette catégorie d'opérateurs se différencie statistiquement (test de Mann-Whitney) des autres postes de la chaîne de fabrication, les mouleurs et les opérateurs de la catégorie IV, avec des médianes respectives de 14 µg/l (9 µg/g de créatinine) et 3 µg/l (3 µg/g de créatinine).

Les mouleurs, qui sont en principe uniquement exposés à la résine liquide en cours de polymérisation au moment du remplissage des moules, excrètent en moyenne environ 6 fois moins de MOCA dans leurs urines de fin de poste que les mélangeurs.

TABLEAU II

#### STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES CONCENTRATIONS EN MOCA OBTENUES SUR LES URINES DE FIN DE POSTE DES SALARIÉS

- DESCRIPTIVE STATISTICS FOR INDIVIDUAL URINARY MOCA CONCENTRATIONS IN POSTSHIFT URINE SAMPLES OF WORKERS IN FOUR FACTORIES

	ENTREPRISE A	ENTREPRISE B	ENTREPRISE C	ENTREPRISE D	TOTAL
Nombre d'opérateurs	11	11	13	5	40
Nombre d'analyses	32	33	33	5	103
<b>MOCA urinaire µg/l (µg/g créatinine)</b>					
Moyenne arithmétique	101 (80)	8 (4)	68 (27)	6 (5)	56 (35)
Moyenne géométrique	33,6 (30,2)	2,9 (2,0)	22,6 (11,8)	4,0 (2,6)	12,1 (8,4)
Médiane	29,5 (20,0)	2,0 (2,0)	27,0 (15,0)	3,0 (2,0)	15,0 (10,0)
Étendue	1,0 – 570 (3,0 – 456)	0,5 – 47 (0,5 – 21)	0,5 – 375 (1,0 – 149)	1,0 – 18 (1,0 – 20)	0,5 – 456 (0,5 – 570)

TABLEAU III

#### RÉSULTATS DES ANALYSES DE MOCA URINAIRE DE FIN DE JOURNÉE PAR POSTE DE TRAVAIL

- INDIVIDUAL URINARY POSTSHIFT MOCA CONCENTRATIONS FOR DIFFERENT JOB CATEGORIES

CATÉGORIE	I	II	III	IV
<b>FONCTION</b>	<b>CHEF-MACHINE</b>	<b>MOULEUR</b>	<b>MAINTENANCE</b>	<b>AUTRES</b>
Nombre d'opérateurs	7	11	6	16
Nombre d'analyses	18	27	17	41
<b>MOCA urinaire µg/l (µg/g créatinine)</b>				
Moyenne arithmétique	128 (54)	20 (9)	158 (128)	7 (5)
Moyenne géométrique	85,0 (42,0)	10,5 (5,6)	62,9 (40,0)	2,9 (2,8)
Médiane	82,0 (49,0)	14,0 (9,0)	59,0 (30,0)	3,0 (3,0)
Étendue	0,5 – 375 (0,5 – 149)	0,5 – 58 (0,5 – 22)	5 – 570 (0,5 – 456)	0,5 – 35 (0,5 – 28)

Pour les opérateurs appartenant à la catégorie IV et qui ne sont a priori pas en contact avec la MOCA, la moyenne de 7 µg/l (5 µg/g de créatinine) obtenue pourrait traduire une certaine pollution des ateliers par la MOCA (poussières de MOCA), ateliers qu'ils sont amenés à traverser sans protection particulière plusieurs fois au cours de la durée de leurs postes de travail. Des relevés de contamination de surface réalisés par la CRAM de Nantes dans une PME de la région Ouest ont permis de mettre en évidence une pollution importante par la MOCA de tous les postes proches de la cuve MOCA, et à proximité des postes de pesée et d'étuvage [50]. Les outils et les vêtements de travail étaient également souillés par la MOCA, ainsi que le bureau du chef d'équipe, qui n'était pas isolé de l'atelier fabrication.

Cette pollution par la MOCA se répand généralement petit à petit dans les ateliers avec le temps, et des incidents de fabrica-

tion ponctuels, comme le renversement accidentel de MOCA sur le sol lors d'un chargement, peuvent l'aggraver. Les très faibles niveaux excrétés et souvent non quantifiables, observés chez les opérateurs de la catégorie IV de l'entreprise B bénéficiant de locaux neufs, corroborent ce constat.

Pour les 17 opérateurs de maintenance suivis dans le cadre de cette étude, la moyenne de 158 µg/l (128 µg/g de créatinine) montre que cette catégorie d'opérateurs peut ponctuellement être fortement exposée à la MOCA à la suite d'interventions sur des machines mettant en œuvre cette substance. Ainsi, lors d'une campagne de prélèvements, nous avons pu suivre trois agents de maintenance occupés à remettre en service une « machine MOCA ». Les expositions, qui étaient à la fois cutanées et inhalatoires en raison d'utilisation de chalumeau, ont entraîné chez ces salariés des excrétions en MOCA

urinaire très élevées, jusqu'à 570 µg/l (456 µg/g de créatinine) avec une moyenne sur les 3 jours de suivi de 306 µg/l (258 µg/g de créatinine). Hormis ces trois opérateurs, la moyenne générale pour les agents de maintenance est de l'ordre de 36 µg/l (19 µg/g de créatinine), moyenne qui reste malgré tout supérieure à celle des mouleurs (cf. tableau III).

## 2.4. Evolution des excréctions (expositions) de 1982 à 1996

Le *tableau IV* présente l'évolution des niveaux moyens excrétés en MOCA urinaire chez les salariés des entreprises A, B et C, déjà suivis dans les années 1982 et 1984, et plus récemment en 1996. Par souci de comparaison, les résultats de 1996 mentionnés dans le tableau sont obtenus sur les urines extraites et analysées selon le protocole décrit dans cet article, mais recueillies sur le terrain dans des pots contenant 0,5 g d'acide citrique, protocole de recueil utilisé par l'INRS dans les années '80.

Les excréctions moyennes mesurées sur une douzaine de salariés (souvent les mêmes), si elles sont notablement plus basses pour l'entreprise B, restent pratiquement inchangées pour les deux autres entreprises. La sécurisation des opérations de chargement, une organisation du travail différente et des locaux neufs ont certainement contribué à cette baisse spectaculaire des niveaux excrétés en MOCA urinaire, en limitant les expositions (principalement cutanées) avec cette dernière. Les résultats obtenus dans l'entreprise B montrent que, dans ce type de fabrication où l'utilisation de MOCA cristallisée représente le risque majeur d'exposition des salariés, des niveaux moyens en MOCA urinaire sur les urines de fin de poste, de l'ordre de quelques dizaines de µg/l, peuvent être raisonnablement exigés pour les salariés les plus exposés.

Les résultats des entreprises A et C montrent également que « la vérité d'un jour n'est pas celle du lendemain » et que l'entreprise et les opérateurs doivent constamment se remettre en cause pour améliorer les conditions de travail (d'exposition), afin de limiter au maximum les concentrations de MOCA dans les urines de fin de poste. La sensibilisation des salariés aux opérations les plus contaminantes en démontrant le bien-fondé du port de protections individuelles, n'est pas suffisante. Il faut une prise de conscience :

**TABLEAU IV**  
ÉVOLUTION DES EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES À LA MOCA,  
DE 1982 À 1996, DANS LES ENTREPRISES A, B ET C  
- EVOLUTION OF OCCUPATIONAL EXPOSURE TO MOCA IN THE FACTORIES A, B AND C FROM 1982 TO 1996

	Date	Nombre d'opérateurs suivis	Niveau moyen en MOCA urinaire (µg/l)
Entreprise A	1982	13	53
	1984	14	236
	1996	11	85
Entreprise B	1982	11	156
	1984	12	25
	1996	11	11
Entreprise C	1982	11	77
	1984	13	34
	1996	13	74

- collective, pour garder les postes de travail exempts de toute pollution par la MOCA,
- et individuelle, pour maintenir une bonne hygiène corporelle et vestimentaire.

## 3. Proposition d'une valeur-guide biologique française

Dans ce chapitre, nous allons nous contenter de faire brièvement un état des lieux de l'existant en matière de valeurs-guides chez nos confrères étrangers, et également rappeler la proposition de l'INRS en matière de traceur biologique pour effectuer le suivi des salariés exposés à la MOCA. L'étude de la pertinence respective des différents traceurs biologiques urinaires rencontrés dans la littérature, à savoir :

- la MOCA libre,
- la MOCA totale,
- la MOCA libérée après chauffage,
- ou encore la MOCA libérée en milieu acide, pour effectuer le suivi des salariés exposés à cette amine aromatique, a fait l'objet d'une publication dans une revue de langue anglaise [45].

Pour pouvoir comparer les valeurs-guides existantes, nous avons donc entrepris de mesurer pour chaque échantillon urinaire prélevé dans les quatre entreprises visitées :

- la MOCA libre,
- la MOCA libérée après simple chauffage de l'urine (au pH de l'urine),
- la MOCA totale,
- mais aussi la MOCA libérée dans les

urines conservées avec de l'acide sulfamique (protocole utilisé dans ce travail) ou avec de l'acide citrique, protocole de conservation couramment utilisé, en particulier à l'INRS, dans les années '80.

### 3.1. Les différentes valeurs-guides existantes

■ Actuellement, il existe deux valeurs-guides basées sur l'analyse de MOCA libre obtenue sur des urines de fin de poste non hydrolysées :

- celle de la California Occupational Safety and Health Administration (CAL/OSHA) [51], fixée à 100 µg/l,
- et celle du Department of Occupational Health, Safety and Welfare, Western Australia (DOHNSWA BAL) [52], fixée à 15 nmol/mmol de créatinine, soit approximativement 45 µg/l.

■ Une troisième, plus récente, éditée par le Health and Safety Executive britannique (HSE) [53], fixée dans un premier temps à 30 nmol/mmol de créatinine puis abaissée à 15 nmol/mmol de créatinine (approximativement 90 et 45 µg/l), est obtenue sur des urines conservées sans acide et chauffées à 80 °C pendant 45 min (hydrolyse douce).

Il n'existe pas aujourd'hui de valeur de référence basée sur la MOCA totale obtenue sur les urines hydrolysées à chaud en milieu fortement basique (hydrolyse forte).

### 3.2. Proposition d'une valeur-guide française

Dans ce contexte et après l'étude exhaustive de différents traceurs urinaires possibles, nous avons montré que l'analy-



se de la MOCA, telle qu'elle est décrite dans cet article, dans les urines recueillies en fin de poste et conservées avec de l'acide sulfamique, constitue un bon compromis pour effectuer le suivi des salariés exposés à la MOCA. Elle offre plusieurs avantages :

- elle permet de s'affranchir de l'étape d'hydrolyse, étape longue et peu pratique, qui complique l'analyse chromatographique ;
- elle permet, grâce à l'apport de l'acide sulfamique, des analyses répétables dans le temps. Cette répétabilité semble en effet plus difficile à obtenir avec l'analyse de la MOCA (MOCA libre) dans les urines conservées à leurs pH de recueil.

Ainsi, avec l'expérience acquise sur le terrain depuis maintenant plus d'une quinzaine d'années, il nous est apparu important et nécessaire aujourd'hui de proposer une valeur guide biologique française, qui facilitera la tâche des hygiénistes du travail dans l'interprétation des résultats des analyses urinaires, et aidera les entreprises à améliorer leurs procédés de fabrication et changer, si nécessaire, leur organisation et habitude de travail.

Une valeur-guide biologique fixée à 20 µg/l, basée sur l'analyse des urines de fin de poste selon la procédure décrite dans cet article, nous paraît raisonnable et techniquement possible à atteindre pour toutes les entreprises visitées, et tout particulièrement pour les opérateurs les plus exposés que sont les chefs-machine (cf. tableau III).

A titre de comparaison et après étude des corrélations entre les différents traceurs biologiques étudiés, cette valeur guide de 20 µg/l pour la MOCA urinaire libérée en milieu « acide sulfamique » correspond à 30 µg/l pour la MOCA totale, et 15 µg/l pour la MOCA libre.

Sur l'ensemble des analyses urinaires effectuées en 1996 (N = 103), tous postes confondus, on observe que 44 % des excréments en MOCA urinaire sont supérieures à cette valeur-guide de 20 µg/l, avec 89 % pour les opérateurs chefs-machine (N = 18), 41 % pour les mouleurs (N = 27), 76 % pour les agents de maintenance (N = 17) et 12 % pour les autres opérateurs (N = 41).

## CONCLUSIONS - RECOMMANDATIONS

Le dosage biologique mis au point et validé dans cette étude se révèle être simple dans son protocole de traitement des urines, sélectif et suffisamment sensible pour effectuer au mieux le suivi des salariés exposés à la MOCA. L'utilisation de matériels chromatographiques standards de mise en œuvre aisée et la possibilité d'automatisation de la phase d'extraction avec l'utilisation de colonnes Extrelut, en font une méthode de choix pour des analyses de routine.

Les résultats du suivi biologique réalisé dans quatre entreprises françaises montrent que la situation actuelle reste préoccupante dans certaines d'entre elles, avec des niveaux moyens en MOCA urinaire excrétée proches de ceux mesurés quinze ans plus tôt. Il apparaît clairement que seuls des contrôles biologiques des niveaux excrétés par les salariés exposés à la MOCA, comme le préconise la Recommandation CNAM R 232 de 1985 [39], pourraient améliorer la situation, entraînant une prise de conscience des responsables de l'entreprise et des opérateurs eux-mêmes, et aboutir à une analyse critique de l'aménagement des différents postes de travail.

Dans la mesure où la MOCA est un cancérogène probable chez l'homme, tous les efforts doivent être faits pour aboutir aux concentrations urinaires les plus faibles possibles. La valeur-guide de 20 µg/l de MOCA, à ne pas dépasser dans les urines de fin de poste, nous paraît actuellement applicable sans trop de difficultés dans toutes les entreprises françaises mettant en œuvre des résines polyuréthanes à base de MOCA. Cette valeur guide arbitraire devrait particulièrement être respectée par les opérateurs qui manipulent ou qui sont en contact régulier ou ponctuel avec la MOCA cristallisée, comme respectivement les chefs-machine et les agents de maintenance qui sont potentiellement les plus exposés. Une bonne connaissance des postes de travail est donc nécessaire pour apprécier au mieux les résultats des analyses urinaires effectuées, et pour certains postes de travail, la non détectabilité de la MOCA urinaire, préconisée par Ducos et coll. [37, 38], par les meilleures méthodes analytiques en vigueur, pourrait être le critère de référence. Ainsi, pour les postes de travail classés en catégorie IV dans cette étude, des excréments inférieures au µg/l pourraient être exigées, en maintenant comme objectif, à terme, que toutes les

catégories de personnel puissent tendre vers cette valeur.

Pour conclure, au regard de la situation actuelle dans les entreprises françaises qui fabriquent des résines à base de MOCA, il apparaît nécessaire de rappeler les quatre impératifs généraux à respecter en priorité pour limiter au maximum les expositions à la MOCA [38] :

- Utiliser, lorsque c'est possible, des solutions de MOCA dans des polyols plutôt que de la MOCA sous forme solide, source d'une pollution importante.
- Considérer ces solutions et toutes résines préparées à partir de ces solutions et encore non polymérisées, comme produits à risque.
- Décontaminer les surfaces, machines, locaux, vêtements et les maintenir dans un état de propreté parfaite.
- Utiliser des protections individuelles jetables et les changer fréquemment.

### Remerciements

Nous remercions les entreprises et tous les salariés qui ont participé à cette étude, ainsi que la Médecine du travail et les Caisses régionales d'assurance maladie concernées.

## BIBLIOGRAPHIE

1. GRUNDMANN E., STEINHOFF D. - Leber- und Lungentumoren nach 3,3'-Dichlor-4,4'-diaminodiphenylmethan bei Ratten. *Zeitung Krebsforschung*, 1970, 74, p. 28.
2. STEINHOFF D., GRUNDMANN E. - Zur cancerogenen Wirkung von 3,3'-Dichlor-4,4'-diaminodiphenylmethan bei Ratten. *Naturwissenschaften*, 1971, 58, p. 578.
3. STULA E.F., SHERMAN H., ZAPP J.A. - Experimental neoplasia in ChR-CD rats with the oral administration of 3,3'-dichlorobenzidine, 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) and 4,4'-methylene-bis-(2-methylaniline). *Soc Toxicol 10th Annual Meeting Washington; summary: Toxicology and Applied Pharmacology*, 1971, 19, p. 380.
4. STULA E.F., SHERMAN H., ZAPP J.A., CLAYTON J.W. - Experimental neoplasia in rats from oral administration of 3,3'-dichlorobenzidine, 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) and 4,4'-methylene-bis-(2-methylaniline). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1975, 31, pp. 159-176.
5. STULA E.F., BARNES J.R., SHERMAN H., REINHARDT C.F., ZAPP J.A. - Urinary bladder tumors in dogs from 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1977, 1, pp. 31-50.

>>>

## BIBLIOGRAPHIE (SUITE)

6. RUSSFIELD A.B., HOMBURGER F., BOGER E., VON DONGEN C.G., WEISBURGER E.K., WEISBURGER J.H. - The carcinogenic effect of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in mice and rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1975, 31, pp. 47-54.
7. KOMMINENI C., GROTH D.H., FROCKT I.J., VOLKER R.W., STANOVICK R.P. - Determination of the tumorigenic potential of methylene-bis-ortho-chloroaniline. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1979, 2, pp. 149-171.
8. MC CANN J., CHOI E., YAMASAKI E., AMES B.N. - Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test-assay of 300 chemicals. *Proceedings of the National Academic of Science (USA)*, 1975, 72, pp. 5135-5139.
9. MC QUEEN C.A., MASLANSKY C.J., CRESCENZI S.B., WILLIAMS G.M. - The genotoxicity of 4,4'-methylene-bis-2-chloroaniline in rat, mouse and hamster hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1981, 58, pp. 231-235.
10. Commission Européenne - 12<sup>e</sup> Adaptation au progrès technique de la Directive 67/548/CEE du 16 Août 1967. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 1991, L180/A, p. 918.
11. IARC - Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: Lyon, IARC, An updating of IARC Monographs Vol. 1 to 42. Supplement 7, 1987.
12. IARC - 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MOCA). Lyon, IARC, coll. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 1992, vol. 57, pp. 271-303.
13. WARD E., HALPERIN W., THUN M., GROSSMAN H.B., FINK B., KOSS L., OSORIO A.M., SCHULTE P. - Bladder tumors in two young males occupationally exposed to MBOCA. *American Journal of Industrial Medicine*, 1988, 14, pp. 267-272.
14. EDWARDS J.W., PRIESTLY B.G. - Biological and biological-effect monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). *Human and Experimental Toxicology*, 1992, 11, pp. 229-236.
15. GRADISKI D., LIMASSET J.C. - Potentialité cancérogène des amines de la famille du diphenylméthane. *Cahiers de Notes Documentaires*, 1973, 72, pp. 305-314.
16. GOUTET P. - Méthylène bis(2-chloroaniline) : Risques toxicologiques et exposition professionnelle. *Cahiers de Notes Documentaires*, 1981, 104, pp. 387-393.
17. LINCH A.L., O'CONNOR G.B., BARNES J.R., KILLIAN A.S., NEELD W.E. - Methylene-bis-ortho-chloroaniline (MOCA): Evaluation of hazards and exposure control. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1971, 32, pp. 802-819.
18. CHIN B., TOBES M.C., HAN S.S. - Absorption of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) by human skin. *Environmental Research*, 1983, 32, pp. 167-178.
19. THOMAS J.D., WILSON H.K. - Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA). *British Journal of Industrial Medicine*, 1984, 41, pp. 547-551.
20. WARD E., CLAPP D., TOLOS W., GROTH D. - Efficacy of urinary monitoring for 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). *Journal of Occupational Medicine*, 1986, 28, pp. 637-642.
21. CLAPP D.E., PIACITELLI G.M., ZAEBST D.D., WARD E. - Assessing exposure to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA) in the workplace. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 1991, 6, pp. 125-130.
22. ICHIKAWA I., YOSHIDA M., OKAYAMA A., HARA I., MORIMOTO K. - Biological monitoring for workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1990, 51, pp. 5-7.
23. LOWRY L.K., CLAPP D.E. - Urinary 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA): a case study for biological monitoring. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 1992, 7, pp. 1-6.
24. VAN ROOSMALEN P.B., KLEIN A.L., DRUMMOND I. - Determination of 3,3'-dichloro-4,4'-diaminodiphenylmethane (MOCA) in urine. In: Egan H., Fishbein L., Castegnaro M., O'Neill I.K., Bartsch H., Davis W. (eds) Environmental carcinogens. Selected methods of analysis, vol. 4 - Some aromatic amines and azo dyes in the general and industrial environment. Lyon, IARC, coll. Scientific Publications, 1981, vol. 40, pp. 183-191.
25. GRISTWOOD W., ROBERTSON S.M., WILSON H.K. - Determination of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in urine by electron-capture gas chromatography. *Journal of Analytical Toxicology*, 1984, 8, pp. 101-105.
26. NIOSH - Manual of Analytical Methods, Method N° 8302, 3<sup>e</sup> ed. *Cincinnati, NIOSH*, 1984, Vol. 1, pp. 8302.1-8302.5.
27. ELLER P.M. (ed.) - NIOSH Manual of Analytical Methods, DHHS (NIOSH) Publ. N° 84-100. Washington DC, US Government Printing Office, 3<sup>rd</sup> ed, 1985, Suppl. 1, pp. 8302.1-8302.4.
28. HARRISON P.A., HANN C.S., HEANES D.L. - Biological monitoring of urinary 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MOCA) as an indicator of industrial exposure. In: Meeting of the Australian Association of Clinical Biochemists. In : 27<sup>th</sup> Annual Conference, 1989, Townsville (Australie).
29. COCKER J., BOOBIS A.R., DAVIES D.S. - Determination of the N-acetyl metabolites of 4,4'-methylenedianiline and 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in urine. *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry*, 1988, 17, pp. 161-167.
30. COCKER J., BOOBIS A.R., WILSON H.K., GOMPERTZ D. - Evidence that a beta-N-glucuronide of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA) is a major urinary metabolite in man: Implications for biological monitoring. *British Journal of Industrial Medicine*, 1990, 47, pp. 154-161.
31. JEDRZEJCZAK K., GAIND V.S. - Determination of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in urine using capillary gas chromatography and negative ion chemical ionisation mass spectrometry. *Analyst*, 1992, 117, pp. 1417-1420.
32. WU S.W., SZKLAR R.S., SMITH R. - Gas Chromatographic Determination and Negative-ion Chemical Ionization Mass Spectrometric Confirmation of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in urine via thin-layer chromatographic separation. *Analyst*, 1996, 121, pp. 321-324.
33. MC KERRELL P.J., SAUNDERS G.A., GEYER R. - Determination of 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) in urine by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 1987, 408, pp. 399-401.
34. TRIPPEL-SCHULTE P., ZEISKE J., KETRUP A. - Track analysis of selected benzidine and diaminodiphenylmethane derivatives in urine by means of liquid chromatography using precolumn sample preconcentration, UV and electrochemical detection. *Chromatographia*, 1986, 22, pp. 138-146.
35. OKAYAMA A., ICHIKAWA Y., YOSHIDA M., HARA I., MORIMOTO K. - Determination of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in urine by liquid chromatography with ion-paired solid-phase extraction and electrochemical detection. *Clinical Chemistry*, 1988, 34, pp. 2122-2125.
36. NUTLEY B.P., CONNELLY C. - Manual and automated methods for the routine analysis of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA) in urine samples (unpublished report). *Sheffield, Health and Safety Executive*, 1991.
37. DUCOS P., MAIRE C., GAUDIN R. - Assessment of occupational exposure to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MOCA) by a new sensitive method for biological monitoring. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1985, 55, pp. 159-167.
38. DUCOS P., GAUDIN R. - Méthylène B-ortho-chloroaniline (MOCA) : évaluation de l'exposition professionnelle en France. *Cahiers de Notes Documentaires*, 1983, 113, pp. 517-522.
39. Manipulation et utilisation de la méthylène-bis-ortho-chloroaniline - Recommandations adoptées par les Comités techniques nationaux des industries du bois et des industries chimiques les 3 et 7 Juin 1983. *Recommandation R231 - INRS*.
40. Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Formation Professionnelle, Paris, France - Arrêté du 5 avril 1985 fixant les instructions techniques que doivent respecter les médecins du travail assurant la surveillance médicale des salariés exposés aux substances susceptibles de provoquer une lésion maligne de la vessie. *Journal Officiel du 11 Mai 1985*.
41. ROBERT A., DUCOS P., FRANCIEN J.M. - Determination of urinary 4,4'-methylenedianiline and its acetylated metabolites by solid-phase extraction and HPLC analysis with UV and electrochemical detection. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1995, 68, pp. 44-51.
42. ROBERT A., DUCOS P., FRANCIEN J.M. - Evaluation de l'exposition professionnelle à la 4,4'-méthylènedianiline (MDA) en France. *Cahiers de Notes Documentaires - Hygiène et Sécurité du Travail*, 1996, 165, ND 2032, pp. 467-474.
43. ROBERT A., DUCOS P., FRANCIEN J.M. - Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-ortho-chloroaniline) (MOCA). I A new and easy determination of "free" and "total" MOCA in urine. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1999, 72, pp. 223-228.
44. MILLER J.C., MILLER J.N. - Statistics for Analytical Chemistry. Chichester, E. Horwood, 1986, 4, p. 96.
45. ROBERT A., DUCOS P., FRANCIEN J.M. - Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-ortho-chloroaniline) (MOCA). II - Comparative interest of "free" and "total" MOCA in urine of exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1999, 72, pp. 229-237.

46. JAFFÉ M. - Über der Niederschlag, welchen Pikriksäure in normalen Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Zeitung Physiologie Chemie*, 1886, 10, pp. 391-400.

47. HORNUNG R.W., REED L.D. - Estimation of average concentration in the presence of non detectable values. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 1990, 5, pp. 46-51.

48. PERKINS J.L., CUTTER C.N., CLEVELAND M.S. - Estimating the mean, variance and confidence limits from censored (< limit of detection), lognormally distributed exposure. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1990, 51, pp. 416-419.

49. COCKER J., NUTLEY B.P., WILSON M.K. - A biological monitoring assessment of exposure to methylene dianiline in manufacturers and users. *Occupational and Environmental Medicine*, 1994, 51, pp. 519-522.

50. CERTIN J.F., SAUVEGRAIN M. - Évaluation et suivi du risqué d'exposition à la MOCA dans une PME depuis 20 ans. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1999, 60, 1, pp. 50-51.

51. CAL/OSHA - State of California, Occupational Safety and Health Administration - General Industry Safety Orders. Title 8, GISO-5215, 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). *Sacramento, Register* 79, 1979, N° 21-5-28-79 : 4426.86-44216.

52. WAN K.C., DARE B.R., STREET N.R. - Biomedical surveillance of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) (MBOCA) in Perth, Western Australia. *Journal of Royal Society of Health (Londres)*, 1989, 5, pp. 159-167.

53. HSE - EM 40/96 Occupational exposure limits 1996. *UK Health and Safety Executive*, 1996.



**INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE ET DE SÉCURITÉ - 30, rue Olivier-Noyer, 75680 Paris cedex 14**

Tiré à part de *Cahiers de notes documentaires - Hygiène et sécurité du travail*, 3<sup>e</sup> trimestre 2001, n° 184 - ND 2155 - 1200 ex.  
N° CPPAP 804/AD/PC/DC du 14-03-85. Directeur de la publication : J.-L. MARIÉ. ISSN 0007-9952 - ISBN 2-7389-1047-5

**Imprimerie de Montligeon - 61400 La Chapelle Montligeon**