

# EXPOSITION AU MDI DANS 19 ENTREPRISES FRANÇAISES – LA MDA URINAIRE COMME BIOMARQUEUR DE L'EXPOSITION

Le 4,4'-méthylènediphényl diisocyanate (MDI), utilisé dans un certain nombre de secteurs industriels mettant en œuvre des résines polyuréthanes, est un agent causal bien connu de l'asthme professionnel. Substance irritante et sensibilisante pour les voies respiratoires, sa classification par les instances européennes en catégorie 3 des cancérigènes est également à l'étude.

La surveillance atmosphérique du MDI, isocyanate peu volatil et que l'on retrouve essentiellement sous forme d'aérosols dans les ateliers, est difficile et souvent peu représentative des expositions professionnelles, d'autant plus que les autres voies d'exposition, comme la pénétration percutanée, ne sont pas prises en compte.

De plus, comme il a été montré que des expositions au MDI par voie cutanée pouvaient déclencher chez l'animal des allergies respiratoires, la prise en compte du contact cutané dans l'évaluation de l'exposition est nécessaire.

Le dosage de la 4,4'-méthylènedianiline (MDA) urinaire est considéré comme un moyen fiable d'évaluation indirecte de l'exposition au MDI intégrant la totalité des voies d'exposition.

Cet article présente une étude qui a donc consisté à évaluer les niveaux d'imprégnation de salariés exposés au MDI dans 19 entreprises françaises par la mesure des taux d'excrétion en MDA urinaire.

L'analyse de 424 urines de fin de poste appartenant à 169 salariés met en évidence des expositions professionnelles significativement plus élevées que celles rencontrées chez des personnes non exposées. Les niveaux excrétés en MDA urinaire diffèrent selon le type de procédé de fabrication et surtout le degré d'automatisation du mélange MDI-polyols. Les opérateurs directement exposés au durcisseur de la résine contenant le MDI monomère excrètent les plus grandes quantités de MDA dans leurs urines de fin de poste et des expositions cutanées avérées au durcisseur ou à la résine en cours de polymérisation entraînent toujours des taux de MDA urinaire significativement plus élevés.

La MDA urinaire s'avère être un outil pertinent pour évaluer les expositions professionnelles au MDI et aider les entreprises à améliorer leur procédé de fabrication et modifier leurs habitudes de travail.

Aujourd'hui, au regard des possibilités techniques et analytiques actuelles des entreprises françaises et des laboratoires de contrôle, une valeur-guide biologique de 7 µg/l (5 µg/g de créatinine) de MDA, à ne pas dépasser dans les urines de fin de poste, pourrait être proposée.

## EXPOSURE TO MDI IN 19 FRENCH POLYURETHANE INDUSTRIES – URINARY MDA AS AN EXPOSURE BIOMARKER

Methylenediphenyl diisocyanate (MDI) is used in many polyurethane resin production plants; it is a well-known agent causing occupational asthma. A respiratory tract irritant and sensitizer, European authority classification of MDI in the carcinogenic category 3 is currently pending a final decision.

Atmospheric monitoring of MDI, an aromatic isocyanate with a very low vapour pressure found mainly in workshops in aerosol form, is difficult and poorly representative of occupational exposures, especially since other exposure routes, as skin penetration, are not considered.

Moreover, skin contact consideration is effectively essential in occupational exposure assessment because it has been shown that MDI exposures through skin contact in animals can trigger respiratory allergies.

Biomonitoring of MDI based on its degradation product 4,4'-methylenedianiline (MDA) in urine is a potentially powerful method of estimating personal exposure, when assessing overall exposure to MDI.

This study was designed to evaluate MDI exposure among workers at 19 French factories by measuring urinary MDA excretion levels.

Analysis of 424 post-shift urine samples, collected from 169 workers, show urinary MDA levels in exposed workers, which are significantly higher than from those of the 120 controls.

Type of process and, particularly, level of automation of the mixing operation (polyols-MDI) appear to be determining factors in exposure level values.

Excretion levels of workers directly exposed to hardener containing MDI monomer were significantly higher than those of other workers and skin exposure to MDI hardener or to polyurethane resin, during the curing phase, were invariably associated with significant MDA levels in urine.

Total MDA in post-shift urine samples is a reliable biomarker for assessing occupational exposure to MDI and for assisting companies in improving their manufacturing processes and working practices.

In the light of the current technical and analytical possibilities of French factories and control laboratories, a biological guide value not exceeding 7 µg/l (5 µg/g of creatinine) in the post-shift urine samples could be proposed in France.

- 4,4'-méthylènediphényl diisocyanate (MDI)
- Résine polyuréthane
- Exposition professionnelle
- Surveillance biologique
- Indicateur biologique

► Alain ROBERT, Philippe DUCOS,  
Jean-Marie FRANÇIN, Philippe MARSAN,  
INRS, département Polluants et santé

- 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate (MDI)
- Polyurethane resin
- Occupational exposure
- Biological monitoring
- Biological indicator

Le 4,4'-méthylènediphényl diisocyanate (CAS n° 101-68-8) est utilisé comme matière première, principalement dans la fabrication de mousses polyuréthanes flexibles et rigides, mais aussi d'élastomères, d'adhésifs, d'enduits de revêtement, de liants, de fibres et de diverses résines thermoplastiques. La capacité de production de l'Union européenne ne cesse de croître. En 2003, elle a été estimée à 2,4 millions de tonnes, faisant du MDI l'isocyanate industriel le plus important devant le diisocyanate de toluylène (TDI). En France, le marché est relativement modeste et représente 220 kilotonnes, soit environ 10 % du marché européen [1].

Le MDI monomère, constitué à 98 % de l'isomère 4,4'-MDI, est très peu utilisé à l'état pur par les industriels. Néanmoins, cette molécule est le composant majoritaire du PMPPI (PolyMéthylène PolyPhényl Isocyanate), produit liquide encore appelé MDI polymérique ou PMDI (CAS n° 9016-87-9), où elle représente environ 50 % du produit, le reste étant des isocyanates de plus haut poids moléculaires (oligomères) formés de deux ou plusieurs molécules de MDI. Pour des applications plus spécifiques nécessitant des exigences particulières (mise en œuvre, propriété du produit final), certains fabricants utilisent du MDI modifié connu sous le nom de prépolymère où la proportion en MDI monomère, plus faible *a priori*, est très variable.

Le MDI monomère en raison de sa faible pression de vapeur à température ambiante se retrouve essentiellement sous forme d'aérosols dans l'atmosphère des ateliers ou de vapeurs dans les procédés à chaud [2]. L'inhalation de poussières est également possible lorsque le MDI pur, cristallisé à température ambiante, est utilisé [3].

Pour réaliser le suivi des salariés exposés, de nombreuses méthodes de dosage du MDI monomère, mais également des oligomères, ont été publiées et des normes atmosphériques très basses ont été adoptées dans de nombreux pays.

Généralement, les niveaux en MDI atmosphérique mesurés dans les environnements de travail sont très inférieurs à la Valeur limite de moyenne d'exposition (VME) française fixée à 100 µg/m<sup>3</sup> sur 8 heures de travail [4, 5].

Des opérations de pulvérisation par pistoletage ou des procédés de fabrication à haute température [6, 7, 8, 9] peuvent toutefois entraîner des expositions ponctuelles plus élevées que la valeur limite (TLV : Threshold Limit Value) de l'ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) de 5 parties par milliard (ppb), soit environ 50 µg/m<sup>3</sup> [10].

Cependant, pour réaliser des prélèvements atmosphériques fiables et représentatifs, l'hygiéniste du travail doit savoir s'il prélève des vapeurs, des aérosols ou les deux à la fois, voire des poussières, compliquant d'autant les supports de piégeage qu'il doit utiliser [11].

Le MDI, agent causal bien connu de l'asthme professionnel, est également classé comme irritant et sensibilisant des voies respiratoires [12]. Une étude récente montre que le MDI pourrait induire, en milieu professionnel, plus de manifestations asthmatiformes que le TDI [13]. Des cas de pneumopathie d'hypersensibilité ont également été décrites chez des salariés exposés au MDI et deux cas d'asthme ayant entraîné la mort lui ont été attribués [14, 15, 16].

Aujourd'hui, cependant, les manifestations asthmatiformes professionnelles dues aux isocyanates ne semblent pas régresser dans le monde malgré la substitution des isocyanates monomères par des formes moins volatiles dans l'industrie des polyuréthanes [17]. En France, une étude récente de l'Observatoire national des asthmes professionnels (ONAP) attribue aux isocyanates 14 à 17 % des cas d'asthmes professionnels [18].

De plus, des études chez l'animal montrent que des hypersensibilités respiratoires résultent de sensibilisation dermique au MDI [19, 20], nécessitant la prise en compte du contact cutané dans l'évaluation de l'exposition et justifiant son classement "skin notation" dans les listes des valeurs MAK allemandes (Maximale Arbeitsplatz Konzentrationen) et TLV ACGIH [21, 10].

Le MDI, obtenu par phosgénéation de l'amine correspondante, en l'occurrence la 4,4'-méthylènedianiline (MDA), est apte, après hydrolyse, à restituer cette amine aromatique *in vivo* en milieu aqueux. Cette propriété a déjà été mise à profit, dans les cas du TDI et du 1,6-diisocyanate d'hexaméthylène (HDI), pour

rechercher les amines correspondantes [les 2,4- et 2,6-diaminotoluylène (TDAs) et l'hexaméthylènediamine (HDA)] dans les milieux biologiques et, en particulier, dans l'urine [22, 23]. Ce dosage des amines est considéré depuis longtemps comme un moyen fiable d'évaluation biologique indirecte de l'exposition aux isocyanates, intégrant la globalité des voies d'exposition [24].

D'autre part, et indépendamment des risques de sensibilisation cutanée et respiratoire du MDI, la formation de MDA *in vivo* constitue un risque potentiel supplémentaire qui demande à être évalué puisque cette molécule est hépatotoxique et considérée comme un cancérigène potentiel chez l'homme [25]. C'est probablement pour cette raison que l'EPA (Environmental Protection Agency, États-Unis) considère le PMDI/MDI comme une substance suspecte quant à son potentiel cancérigène pour l'homme [26]. La DFG allemande (Deutsche Forschungs Gemeinschaft) a classé le MDI dans la catégorie 3 des substances suspectées d'un potentiel cancérigène pour l'homme, substances pour lesquelles la surveillance médicale des travailleurs doit être intensifiée [21]. Plus récemment, le MDI apparaît au niveau européen dans la troisième liste des substances prioritaires pour lesquelles les effets potentiels sur l'homme ou l'environnement doivent faire l'objet d'une « attention particulière » et son classement en catégorie 3 est à l'étude [27]. Quelques travaux ont tenté d'évaluer le risque cancérigène associé à l'exposition au MDI [28, 29, 30] et évoquent la responsabilité éventuelle de la MDA [28].

Enfin, des résultats récents font état de son caractère génotoxique chez l'homme [31].

Dans la littérature, quelques articles parus depuis 1993 traitent du suivi de salariés exposés au MDI, en utilisant la MDA urinaire comme traceur biologique des expositions [32, 33, 34, 35, 36, 37]. Actuellement, le dosage de la MDA urinaire permet d'identifier clairement des expositions au MDI intégrant la globalité des voies d'exposition. Trois études de terrain récentes montrent que ce dosage met en évidence des expositions professionnelles au MDI, autres qu'atmosphériques [38, 39, 40].

Depuis 1995, de nombreuses techniques analytiques, plus ou moins sophis-

tiquées, ont été décrites pour doser la MDA urinaire. Beaucoup utilisent, après dérivation, la chromatographie gazeuse avec détection de masse (GC/MS). La chromatographie liquide haute performance avec des détecteurs plus conventionnels, ultraviolet (UV) et/ou électrochimique (EC), reste marginale [41, 42, 43, 44]. Récemment, une équipe suédoise a développé une méthode en chromatographie liquide avec détection et quantification par spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS) [45].

Les objectifs principaux de cette étude étaient d'évaluer les niveaux en MDA urinaire excrétés par les salariés travaillant dans différents secteurs industriels où sont mis en œuvre des produits à base de MDI, d'identifier les procédés de fabrication les plus polluants et les postes de travail les plus exposés et d'évaluer la pertinence de ce biomarqueur pour rendre compte des expositions professionnelles. Une valeur guide biologique française pour le MDI est également proposée.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### ENTREPRISES ET EXPOSITIONS

Le choix des entreprises a été effectué avec le concours des médecins du travail et des Caisses régionales d'assurance maladie (CRAM). Des campagnes de suivi biologique avec prélèvements d'urines ont été réalisées dans 19 entreprises françaises fabriquant des résines à base de MDI. Pour chaque entreprise, après accord de la direction, une visite préliminaire en présence du médecin du travail concerné a permis de déterminer les postes de travail à inclure dans l'étude, de fixer la date et les modalités d'intervention et d'informer les salariés volontaires soumis aux prélèvements urinaires.

Les sites d'intervention étaient très variés, tant du point de vue de leur taille, allant de la petite entreprise avec quelques salariés à la moyenne entreprise avec plusieurs centaines de salariés, que du type de résine fabriquée, de leur mode de fabrication et de leur mise en œuvre.

Très schématiquement, la fabrication de résines polyuréthanes consiste

généralement à mélanger deux parties liquides, une partie A composée de polyols et une partie B contenant l'isocyanate. Le MDI pur, composé à 98 % d'isomère 4,4'-MDI (MDI monomère), est un produit solide conditionné sous forme de poudre ou de pastilles dont la conservation et la manipulation sont délicates. Pour ces raisons, et également pour permettre un meilleur contrôle des réactions de polymérisation, les industriels préfèrent utiliser du MDI polymérique (mélange de MDI monomère et d'oligomère (oligoisocyanates) où le MDI monomère reste majoritaire et pour des applications plus spécifiques, d'autres mélanges appelés plus communément MDI prépolymères où le taux de MDI monomère est réduit à quelques pour cent.

Par la suite, l'acronyme « MDI » sera utilisé pour désigner ces différentes formes de MDI et MDI monomère pour le 4,4'-MDI, lorsque la distinction sera nécessaire. La notion de MDI « générale » (CAS n° 26447-40-5) a d'ailleurs été introduite pour désigner de manière non spécifique tout isomère de MDI isolé ou en mélanges d'isomères en proportions quelconques, à l'état monomère ou d'oligomères.

L'opération de mélange isocyanate-polyols est plus ou moins mécanisée et la polymérisation, réalisée à chaud ou à froid, s'effectue soit dans des moules hermétiquement clos (procédé fermé), soit à l'air libre (procédé ouvert) [46]. Le mélange peut ensuite être coulé ou pulvérisé sur différents supports. Deux entreprises visitées, fabriquant ou conditionnant des prépolymères à base de MDI, ne rentrent cependant pas dans ces classifications.

En bout de chaîne, les pièces de résine polyuréthane refroidies sont transférées dans des ateliers de finition, où elles subissent différentes opérations, tels l'ébarbage, le ponçage, le polissage... avant leur conditionnement.

Les résines polyuréthanes sont utilisées dans de nombreuses applications industrielles et parmi les 19 entreprises visitées, on peut citer : l'isolation thermique de parois et de tuyaux métalliques, la literie, les fournitures automobiles, l'emballage, les pièces techniques, la sérigraphie, les revêtements de sol, les adhésifs et la consolidation de galeries minières.

Cent soixante neuf salariés ont fait l'objet de prélèvements urinaires. Lorsque cela était possible, les prélèvements urinaires ont été réalisés sur des périodes de plusieurs jours de travail consécutifs, pour rendre au mieux compte des conditions de travail habituelles.

Chaque soir, une fiche de poste, remplie avec l'intéressé, relatait l'activité de la journée en précisant s'il y avait eu port ou non de protections individuelles lors des opérations jugées polluantes. Les contaminations cutanées visibles ou avérées étaient également renseignées.

Selon leur activité et leur niveau d'exposition potentielle au MDI monomère, les salariés ont été classés *a priori* comme fortement, moyennement ou faiblement exposés. Les opérateurs les plus exposés (poste de travail I) étaient potentiellement en contact direct avec la partie « durcisseur » de la résine contenant le MDI monomère (les mélangeurs, le personnel de laboratoire, les applicateurs par pulvérisation). Les opérateurs qui avaient signalé dans leur questionnaire des contacts cutanés, accidentels ou non, avec la résine ont également été classés dans cette catégorie de poste de travail.

Les opérateurs moyennement exposés (poste de travail II) étaient plus spécifiquement exposés à la résine en cours de polymérisation (les mouleurs, les applicateurs, les aides au pistolette...).

Enfin, les opérateurs classés comme faiblement exposés (poste de travail III) travaillaient sur le produit fini (résine polymérisée), lors d'opérations de ponçage, d'ébarbage, de découpage... Le personnel d'encadrement amené à séjourner dans les ateliers sans protection particulière a été également classé dans cette catégorie.

Les urines de 120 témoins, non professionnellement exposés au MDI et/ou à la MDA (métabolite urinaire du MDI), ont été recueillies parmi le personnel INRS mais aussi parmi le personnel administratif d'autres entreprises.

### PRÉLÈVEMENTS URINAIRES

Les salariés, potentiellement exposés au MDI, se soumettaient à un recueil urinaire quotidien en fin de journée de travail ; mais également, pour les opérateurs de 13 entreprises visitées, à un recueil en début de poste avant la repri-

se du travail le lendemain matin. Les échantillons étaient recueillis dans des flacons en polyéthylène haute densité de 100 ml contenant 1 gramme d'acide sulfamique (solide à température ambiante) et congelés sur place (-18°C). La congélation des urines n'est pas obligatoire car la présence d'acide au moment du recueil stabilise la MDA et ses métabolites acétylés, permettant l'envoi des urines à température ambiante au laboratoire d'analyse.

## DOSAGE URINAIRE DE LA MDA TOTALE

Le protocole analytique utilisé, avec cependant quelques modifications, est celui de la méthode mise au point et utilisée par l'INRS pour évaluer les expositions professionnelles à la MDA dans les secteurs industriels où elle est utilisée, comme agent de réticulation pour la mise en œuvre de résines époxydiques et de mousses polyuréthanes rigides, ou comme intermédiaire de synthèse dans la préparation de résines polyamide-imide, polyester-imide et bismaléimide [44].

Les différentes étapes de ce protocole sont résumées dans l'Annexe.

Les principales modifications sont les suivantes :

- la durée de l'hydrolyse basique de l'échantillon urinaire, qui permet de libérer tous les métabolites de la MDA (acétylés, glucuroconjugués et autres) pour aboutir à la MDA urinaire totale, passe de 1 heure à 24 heures ;

- avec les nouvelles colonnes Extrelut® NT20, le volume de diéthyl éther passe de 50 à 40 ml ;

- l'utilisation d'un four colonne permet de stabiliser le temps de rétention de la MDA mais aussi d'améliorer sa séparation vis-à-vis d'interférents potentiels présents dans l'urine.

Les valeurs de MDA urinaire totale sont exprimées en microgrammes par litre (µg/l).

## DOSAGE DE LA CRÉATININE

Les déterminations ont été effectuées selon la méthode de Jaffé [47]. Les valeurs de MDA totale sont aussi exprimées après correction par la créatinine, pour tenir compte de la diurèse mais, également, par souci de comparaison avec d'autres travaux publiés.

## ANALYSES STATISTIQUES

La distribution des concentrations de MDA mesurées dans les urines des salariés ne suivant pas une loi normale, les différences entre les populations ont été mises en évidence par les tests non paramétriques de Mann-Whitney et de Kruskal-Wallis (logiciel Statgraphics®) pour comparer respectivement deux ou plusieurs groupes d'exposition.

Les données provenant d'un même individu pendant la semaine de travail sont considérées comme indépendantes en raison de la variabilité des expositions plus déterminante que le facteur individuel.

Les valeurs de MDA urinaire inférieures à la limite de détection (0,10 µg/l) ont été prises en compte pour le traitement statistique en divisant cette limite par deux [48, 49] et les différences considérées comme significatives au niveau de confiance de 95 % (P < 0,05).

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les taux de MDI monomère (4,4'-MDI) utilisées par les entreprises suivies, dans leurs différentes formes commerciales, ont été évalués à l'INRS et variaient de 1 à 70 %, avec une valeur moyenne de l'ordre de 40 %. Seules quatre entreprises manipulaient des durcisseurs avec des taux de MDI monomère inférieurs à 30 % et une entreprise utilisait du MDI pur (98 % de 4,4'-MDI).

Les résultats, sont consignés dans les tableaux. 822 analyses urinaires de MDA ont été réalisées (169 opérateurs potentiellement exposés et 120 témoins), avec pour les exposés, respectivement 278 et 424 analyses de début et fin de poste (cf. Tableau 1).

Dans les 13 entreprises visitées, où des recueils urinaires ont pu être réalisés en début et fin de poste, les niveaux en MDA excrétés en fin de poste étaient significativement plus élevés que ceux mesurés dans les urines de début de poste (P < 0,01). En conséquence, les résultats présentés selon le type de procédé de fabrication, le taux d'automatisation du procédé et les catégories

de postes de travail ont été obtenus uniquement avec les analyses des urines de fin de poste (cf. Tableaux II, III et IV).

Cependant, l'analyse des urines en début de poste suivant (soit après 16 heures sans exposition professionnelle) peut s'avérer informative et attester d'expositions significatives, la veille, en toute fin de poste. Ainsi, dans 20 % des analyses de début de poste, les niveaux excrétés sont plus élevés que ceux mesurés dans les urines de fin de poste correspondant. Avec une moyenne arithmétique de 0,70 µg/l, ils se distinguent également significativement de ceux mesurés chez les témoins (P < 0,05), où le bruit de fond environnemental moyen est de l'ordre de 0,14 µg/l. La présence de MDA dans la miction de ces opérateurs avant la prise du poste suivant peut également attester d'une vitesse d'élimination plus lente chez ces derniers. Cependant, nous n'avons pas observé d'accumulation de MDA en fin de semaine, pas plus que chez deux opérateurs que nous avons suivi sur deux jours de travail consécutifs avec recueil de toutes leurs mictions sur 48 heures [50].

La correction par la créatinine n'apporte pas d'information supplémentaire sur les résultats, dans le sens où les classements par type de population ne changent pas, les tests statistiques appliqués gardant leur même niveau de significativité. En conséquence et par souci de simplification, les valeurs corrigées ne sont mentionnées que dans les tableaux et, exceptionnellement, dans le texte, si la comparaison avec d'autres résultats déjà publiés l'exige.

## LES EXPOSITIONS PROFESSIONNELLES AU MDI SONT SIGNIFICATIVES

L'analyse des 424 urines montre que les excrétions en MDA urinaire de fin de poste des salariés, tous postes de travail confondus, sont significativement plus élevées (P < 0,01) que celles mesurées chez les témoins, avec des médianes respectives de 0,39 et 0,05 µg/l (cf. Tableau 1). La MDA urinaire était détectable dans 73 % des échantillons recueillis, avec 30 % de valeurs supérieures à 1 µg/l. Chez les témoins, les proportions correspondantes étaient respectivement de 32 et 0 %.

TABLEAU I

**MDA urinaire chez les travailleurs et les témoins**  
**Urinary MDA in workers and controls**

	MDA urinaire $\mu\text{g/l}$ ( $\mu\text{g/g}$ créatinine)		
	Exposés		Témoins
	Début de poste	Fin de poste	
Nombre d'analyses	278	424	120
Moyenne arithmétique	0,70 (0,55)	1,25 (1,16)	0,14 (0,11)
Médiane	0,30* (0,26)*	0,39** (0,34)**	0,05 (0,05)
Étendue	< 0,10 - 13,30 (< 0,10 - 12,00)	< 0,10 - 23,60 (< 0,10 - 33,70)	< 0,10 - 0,87 (< 0,10 - 0,88)

\* et \*\* différences significatives entre exposés et témoins  
 (\*P < 0,05 ; \*\*P < 0,01).

TABLEAU III

**Résultats selon le degré d'automatisation du mélange polyols-MDI**  
**Results according to automation level of mixing operation (polyols-MDI)**

Automatisation du mélange	MDA urinaire $\mu\text{g/l}$ ( $\mu\text{g/g}$ créatinine)	
	Haute	Faible
Nombre d'entreprises	5	14
Nombre d'opérateurs	16	45
Nombre d'analyses	105	114
Moyenne arithmétique	0,57 (0,57)	3,60 (3,22)
Médiane	0,20 (0,29)	1,38*(1,20)*
Étendue	< 0,10 - 8,70 (< 0,10 - 8,88)	< 0,10 - 23,60 (< 0,10 - 33,71)

\* différence significative entre haut et faible degré d'automatisation  
 (P < 0,01)

L'augmentation, en fin de poste, des concentrations en MDA urinaire, à des niveaux significativement plus élevés que ceux mesurés dans la population générale, atteste d'une exposition avérée au MDI chez les salariés des entreprises fabriquant des résines polyuréthanes.

La MDA urinaire n'étant pas un traceur spécifique de l'exposition au MDI, les concentrations urinaires mesurées chez les témoins peuvent s'expliquer par des expositions au MDI et/ou à la MDA lors de l'utilisation domestique de mousses, de laques, de vernis... conte-

nant des traces de ces deux substances. L'exposition *via* des aliments ou des boissons qui ont été en contact avec ces substances ne doit pas être exclue.

Pour les salariés exposés, les niveaux mesurés sont plus spécifiquement le reflet d'une exposition au seul MDI pendant les 8 heures de travail (pas d'utilisation concomitante de MDA dans les entreprises visitées), surtout en fin de poste où la part du bruit de fond environnemental est, *a priori*, négligeable.

TABLEAU II

**Résultats selon le procédé de fabrication**  
**Results according to type of process**

	MDA urinaire $\mu\text{g/l}$ ( $\mu\text{g/g}$ créatinine)		
	Fermé	Ouvert	Autre
Nombre d'entreprises	6	11	2
Nombre d'analyses	177	187	60
Moyenne arithmétique	1,55 (1,40)	1,10 (1,07)	0,83 (0,71)
Médiane	0,50* (0,43)*	0,36 (0,24)	0,28 (0,32)
Étendue	< 0,10 - 23,60 (< 0,10 - 33,70)	< 0,10 - 15,60 (< 0,10 - 25,40)	< 0,10 - 9,75 (< 0,10 - 8,80)

\* différence significative entre procédé fermé et ouvert (P = 0,02).

TABLEAU IV

**Résultats selon le poste de travail**  
**Results according to job category**

Poste de travail	MDA urinaire $\mu\text{g/l}$ ( $\mu\text{g/g}$ créatinine)		
	I	II	III
Nombre d'opérateurs	61	51	57
Nombre d'analyses	140	125	159
Moyenne arithmétique	2,64 (2,55)	0,71 (0,63)	0,45 (0,34)
Médiane	0,70* <sup>o</sup> (0,64)* <sup>o</sup>	0,46* (0,35)*	0,18 (0,16)
Étendue	< 0,10 - 23,60 (< 0,10 - 33,70)	< 0,10 - 4,40 (< 0,10 - 8,80)	< 0,10 - 5,60 (< 0,10 - 2,70)
90 <sup>ème</sup> Quantile	6,80 (4,70)	1,60 (1,30)	1,20 (0,90)

\* différence significative entre le poste de travail III et les deux autres  
 (P < 0,01)

<sup>o</sup> différence significative entre I et II (P < 0,01)

Globalement, les résultats de cette étude sont en accord avec ceux publiés dans la littérature et, en particulier avec ceux de Rosenberg et coll. [39] qui, sur 69 analyses urinaires provenant de 21 opérateurs travaillant dans 5 entreprises différentes, obtiennent une valeur moyenne en MDA urinaire de 1,0  $\mu\text{g/l}$ .

En revanche, les concentrations urinaires maximales mentionnées dans les autres études de terrain publiées s'échelonnent de 2,00 à 9,40  $\mu\text{g/l}$ , valeurs assez éloignées de celle mesurée à 23,60  $\mu\text{g/l}$  dans notre étude.

La stabilisation ou non de la MDA et de ses métabolites au moment de recueil urinaire par l'ajout d'acide, mais également le type d'acide utilisé contribuent probablement à expliquer ces différences [51]. A noter, cependant, qu'une étude de terrain récente [40] fait état, chez un fondeur, d'une excrétion urinaire en MDA de 12,64  $\mu\text{mol/mol}$  de créatinine, soit environ 32,40  $\mu\text{g/l}$ , valeur plus proche de celle que nous avons mesurée dans notre étude. Des valeurs maximales à 38 et 78  $\mu\text{g/l}$  ont également été observées dans des entreprises suédoises [52].

### LES SALARIÉS SONT DIFFÉREMMENT EXPOSÉS AU MDI SELON LE TYPE DE PROCÉDÉ DE FABRICATION

Sur le terrain, le nombre d'échantillons urinaires recueillis sur un ou plusieurs jours de travail dans une entreprise donnée est un paramètre difficile à maîtriser. Il dépend de la taille de l'entreprise et de ses exigences, du nombre de salariés désireux de participer à la campagne et des désistements ou empêchements de dernière heure. Ainsi, le nombre de recueils urinaires par entreprise est très hétérogène, allant pour cette étude de 6 à 52 analyses. En conséquence, la présentation sous forme d'histogrammes des résultats par entreprise n'est pas très informative, d'autant que les matières premières (% de MDI monomère dans le durcisseur), la mise en œuvre des résines et les pratiques de travail se révèlent également très variées.

En revanche, l'examen statistique des résultats relatifs aux trois grandes catégories de procédés de fabrication permet de différencier les entreprises qui travaillent en système clos (procédé fermé) de celles qui travaillent en système ouvert (procédé ouvert), avec cependant une différence peu marquée, même si elle est significative (test de Mann-Whitney,  $p = 0,02$ ). Curieusement, les niveaux excrétés en MDA urinaire chez les salariés des 6 entreprises travaillant en système clos sont plus élevés que ceux observés chez les salariés des 11 entreprises travaillant en système ouvert, avec des médianes respectives de 0,50 et 0,36  $\mu\text{g/l}$ . Ce résultat, également observé dans une étude récente [40], peut s'expliquer par le fait que les entreprises qui travaillent en système « fermé » manipulent souvent des quantités de MDI beaucoup plus importantes. Une impression de sécurité pourrait également rendre les opérateurs moins vigilants sur les règles à respecter.

La représentation graphique (cf. *Figure 1*) des logarithmes des moyennes des concentrations en MDA urinaire pour chaque entreprise, encadrées par leurs barres d'erreur à 95 % indiquant la différence minimale significative (test de Fisher LSD, Least Significant Difference), permet de visualiser, dans chaque catégorie (*Tableau II*), les entreprises qui diffèrent significativement des autres. L'utilisation de l'échelle logarithmique est nécessaire en raison d'une distribution des données proche d'une loi log-normale.

Ainsi, exceptées les entreprises B et D pour les procédés fermés et les entreprises H, M et O pour les procédés ouverts, les moyennes globales respectives passent à 0,58 et 1,16  $\mu\text{g/l}$ , valeurs plus conformes au ressenti sur le terrain.

Tous procédés confondus, trois entreprises se différencient des autres par des niveaux d'excrétion moyens plus élevés (B, D et H) et constituent des cas à part.

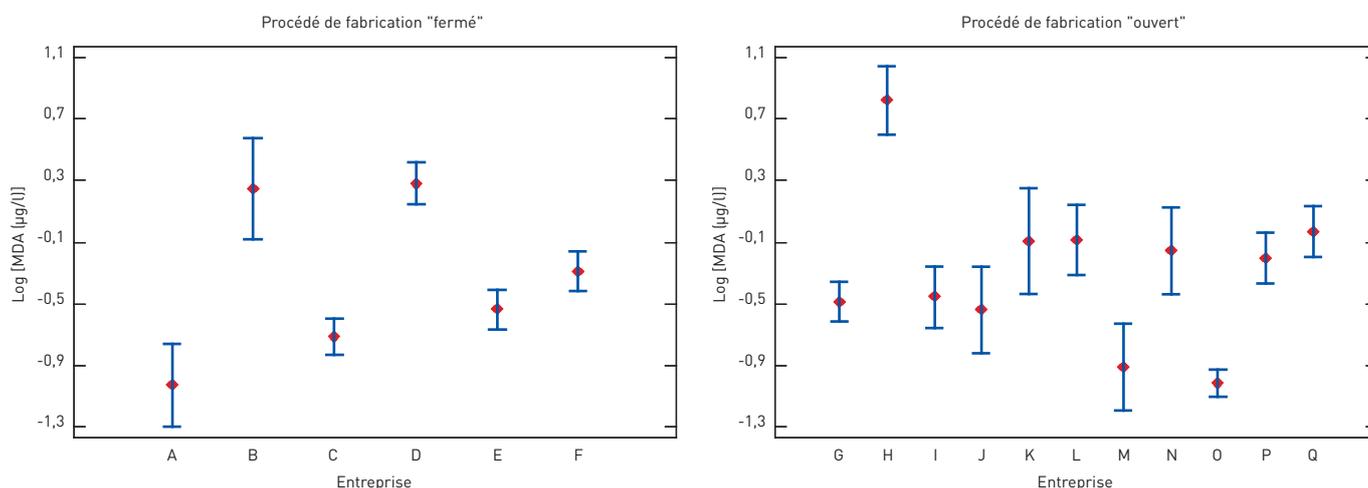
La fonderie visitée fait partie de ces entreprises, puisque la température élevée (160°C) atteinte par les moules de sable lié par de la résine polyuréthane augmente le risque d'inhalation de MDI sous forme de vapeurs ou d'aérosols, mais aussi de MDA, produit de dégradation à chaud de la résine [40]. Pour les deux autres entreprises, les niveaux moyens excrétés, plus élevés, s'expliquent, soit par des contacts cutanés répétés avec la résine MDI chez les opérateurs suivis, soit par des expositions ponctuelles élevées lors d'opérations spécifiques.

### L'AUTOMATISATION DU MÉLANGE ISOCYANATE-POLYOLS CONTRIBUE À FAIRE BAISSER LES EXPOSITIONS

Dans les entreprises suivies, l'opération potentiellement exposante, qui consiste à mélanger la partie « isocyanate » avec la partie « polyols », permet de distinguer deux grandes catégories d'entreprises en fonction de l'automatisation ou non de cette opération.

FIGURE 1

Représentations graphiques des différences d'exposition en fonction des entreprises  
Graphical representations of exposure differences according to factory



Une analyse de la variance fait apparaître que les entreprises qui n'ont pas automatisé le mélange isocyanate-polyols différent très significativement des autres, avec sur l'ensemble des postes de travail suivis un niveau moyen des excrétions en MDA urinaire de 3,60 µg/l, soit environ 6 fois supérieur à la moyenne arithmétique obtenue dans les entreprises automatisées (cf. *Tableau III*).

L'automatisation du mélange permet de limiter au maximum les expositions avec le prépolymère contenant le MDI monomère et, plus particulièrement, les contacts cutanés, le mélange étant le plus souvent réalisé à des températures relativement basses pour ne pas générer de vapeurs et/ou d'aérosols de MDI.

L'analyse par entreprise montre également que ce sont les plus grandes d'entre elles avec des volumes de production élevés et souvent une meilleure prise en charge et gestion du risque chimique, qui ont automatisé leur procédé de fabrication. De plus, le mélange isocyanate-polyols est généralement réalisé par un seul opérateur pour alimenter plusieurs machines de coulée et, souvent, dans une partie de l'atelier éloignée des opérations de moulage. Cette organisation du travail, en limitant le nombre d'opérateurs sur les postes de travail potentiellement à risque, peut également expliquer un niveau global d'exposition au MDI plus faible.

### LES SALARIÉS SONT DIFFÉREMMENT EXPOSÉS AU MDI SELON LEUR POSTE DE TRAVAIL

L'examen des résultats relatifs aux trois grandes catégories de poste de travail (comme définies précédemment) confirme que les plus fortes excrétions en MDA urinaire sont mesurées chez les salariés a priori les plus exposés au MDI monomère, c'est-à-dire les salariés qui préparent le mélange isocyanate-polyols. Avec une moyenne arithmétique de 2,64 µg/l, cette catégorie se différencie statistiquement des catégories de poste II et III, avec des moyennes respectives de 0,71 µg/l et 0,45 µg/l.

Les postes de travail classés en catégorie II, qui concernent principalement des opérateurs potentiellement exposés à la résine en cours de polymérisation, sont également significativement plus exposés que les opérateurs appartenant

à la catégorie III, exposés au produit fini, c'est-à-dire à la résine polymérisée (cf. *Tableau IV*).

Pour les opérateurs de la catégorie III, si le niveau moyen excrété en fin de poste est faible, il est cependant significativement plus élevé que celui mesuré dans une population de personnes non professionnellement exposées et traduisant le bruit de fond environnemental ( $p < 0,05$ ; test de Mann-Whitney). Cela confirme que le protocole de traitement et d'analyse des urines mis au point est suffisamment sensible pour évaluer toutes les expositions professionnelles au MDI. Des opérations de ponçage ou de découpe à chaud de pièces de résine fraîchement polymérisée réalisées, sans système d'aspiration des poussières ou des aérosols, pourraient expliquer les niveaux mesurés chez certains opérateurs de la catégorie III. Cependant, pour la majorité d'entre eux, le risque d'exposition au MDI est essentiellement de type cutané; lors de la manipulation du produit fini sans protection, le port de gants n'étant pas jugé nécessaire.

À noter, que les différences statistiques entre les trois catégories de poste de travail pour l'ensemble des entreprises sont également observées au niveau de chacune d'entre elles.

### LA PÉNÉTRATION CUTANÉE EST-ELLE PRÉPONDÉRANTE ?

Le MDI étant un isocyanate peu volatil, il est donc peu probable de le retrouver sous forme de vapeur dans les environnements professionnels visités sauf, éventuellement, dans les fonderies où les moules de résine et de sable sont portés à 160°C. Si le MDI est présent dans l'atmosphère, il ne peut donc l'être que sous forme d'aérosols [2], dont la composition évolue plus ou moins rapidement dans le temps jusqu'à polymérisation complète.

Aujourd'hui, le fait qu'aucune étude de terrain ne mette en évidence de lien fort entre MDI atmosphérique et MDA urinaire excrétée [23, 38, 52, 53], plaide en faveur d'une exposition professionnelle par voie cutanée significative, voire prépondérante.

Sur le terrain, à la lecture du questionnaire associé à chaque recueil urinaire, le signalement de contacts cutanés avec le prépolymère MDI ou la

résine en cours de polymérisation (suite à des manipulations sans gants ou des incidents de fabrication) ont toujours entraîné, en fin de poste, des excrétions en MDA urinaire sensiblement plus élevées. Creely et coll. [40] montrent que des contaminations dermiques entraînent chez les opérateurs concernés des excrétions urinaires plus de deux fois plus élevées que celles mesurées chez les opérateurs qui ne s'estimaient pas sujets à de telles contaminations.

Dans l'entreprise visitée (H), nous avons pu suivre 7 salariés qui devaient régulièrement tester, sans gant pour des raisons d'efficacité, le degré de polymérisation de la résine fabriquée. Ces expositions cutanées répétées ont entraîné chez ces salariés des excrétions en MDA urinaire relativement élevées, avec une moyenne globale de 8,18 µg/l statistiquement très différente des autres entreprises visitées (cf. *Figure 1*).

De plus, l'excrétion urinaire maximale, mesurée à 23,60 µg/l en fin de poste, chez un laborantin travaillant avec des solutions de MDI, peut s'expliquer par l'utilisation de chlorure de méthylène lors d'opérations de nettoyage sans protection adéquate. Ce dernier facilite très certainement la pénétration du MDI dans l'organisme.

Une équipe allemande [54] a montré que des volontaires, exposés à des concentrations de MDI atmosphérique de 3,9 µg/m<sup>3</sup>, excrétaient en moyenne 1,1 µg/l de MDA dans leurs urines. Par extrapolation de ces données, l'excrétion en MDA urinaire maximale mesurée à 23,60 µg/l correspondrait à une exposition au MDI atmosphérique de l'ordre de 85 µg/m<sup>3</sup>, valeur proche de la VME française à 100 µg/m<sup>3</sup> et improbable pour le poste concerné.

Les niveaux excrétés par deux opérateurs, appliquant par pulvérisation une résine polyuréthane sur le sol d'un entrepôt industriel, attestent d'expositions cutanées prépondérantes. En effet, malgré le port de combinaisons à capuche, de gants et d'appareils respiratoires, des excrétions en MDA urinaire de l'ordre de 8,74 µg/l ont été mesurées en fin de poste chez l'opérateur qui utilisait le pistolet, attestant d'expositions au MDI significatives. Dans le cas présent, comme l'appareil respiratoire utilisé était adapté à la situation rendant l'inhalation et/ou l'ingestion d'aérosols de MDI impossible, seules

des contaminations par voie cutanée peuvent expliquer de telles excrétions. Lors des pauses, le relâchement de la vigilance et le non-respect des règles de sécurité au moment de retirer les protections souillées par la résine peuvent expliquer ces expositions.

### PROPOSITION D'UNE VALEUR-GUIDE BIOLOGIQUE FRANÇAISE

Actuellement, il existe deux valeurs-guides biologiques basées sur l'analyse de MDA totale obtenue sur des urines de fin de poste hydrolysées :

■ celle de la Technische Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) 903 allemande, fixée à 10 µg de MDA par gramme de créatinine et obtenue, après extrapolation, chez des volontaires exposés à des concentrations contrôlées de MDI atmosphérique. Récemment pour le MDI, un nouveau concept de valeur-guide biologique BGW (Biologische Grenzwerte) a été introduit avec une valeur fixée à 10 µg/l [21] ;

■ celle, plus récente, proposée par le Working group on Action To control CHEMicals britannique (WATCH) et fixée à 1 µmol/mol de créatinine, soit approximativement 2,60 µg/l [55].

Dans ce contexte, et avec les données que nous avons collectées, il nous apparaît important et nécessaire de proposer aujourd'hui une valeur guide biologique française :

■ pour faciliter la tâche des hygiénistes du travail dans l'interprétation des résultats de leurs analyses urinaires ;

■ pour aider les entreprises à améliorer leurs procédés de fabrication et changer, si nécessaire, leur organisation et leurs habitudes de travail.

Une valeur-guide biologique fixée à 7 µg/l (5 µg/g de créatinine), basée sur l'analyse des urines de fin de poste selon la procédure décrite en Annexe, nous paraît raisonnable et techniquement possible à atteindre pour toutes les entreprises visitées et, tout particulièrement, pour les opérateurs les plus exposés (catégorie I). Cette valeur arbitraire représente le 90<sup>ème</sup> percentile des 140 analyses réalisées chez les 61 opérateurs les plus exposés

Sur l'ensemble des analyses urinaires effectuées (n = 424), tous postes confondus, 4 % des excrétions en MDA

urinaire sont supérieures à cette valeur-guide de 7 µg/l. Cette proposition passe à 12 % pour les opérateurs de la seule catégorie I.

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Le suivi biologique des salariés réalisé dans 19 entreprises françaises mettant en œuvre des résines polyuréthanes à base de MDI permet de mettre clairement en évidence des expositions professionnelles à cet isocyanate, confirmant la pertinence du dosage de la MDA urinaire comme indicateur d'exposition.

### Les résultats

■ montrent des excrétions de MDA plus importantes en fin de poste qu'en début de poste et significativement plus élevées que celles mesurées chez des témoins,

■ permettent de différencier les entreprises qui, dans leur procédé de fabrication, ont automatisé le mélange isocyanate-polyols,

■ permettent de distinguer trois grandes catégories de poste de travail en fonction du risque d'exposition potentiel au MDI monomère,

■ confirment l'hypothèse d'une contamination prioritairement par voie cutanée, les excrétions les plus élevées étant mesurées dans les urines de fin de poste des opérateurs soumis, accidentellement ou non, à des contacts cutanés avec la résine.

Dans la mesure où la MDA est un cancérigène potentiel chez l'homme, tous les efforts doivent être faits pour aboutir aux concentrations urinaires les plus faibles possibles. Compte tenu des méthodes analytiques, mais aussi des capacités techniques actuelles, la valeur-guide de 7 µg/l de MDA, à ne pas dépasser dans les urines de fin de poste, nous paraît applicable sans trop de difficultés dans toutes les entreprises françaises mettant en œuvre des résines polyuréthanes à base de MDI.

Cette valeur-guide technique devrait surtout être respectée pour les opérateurs occupant les postes de travail les plus exposés (catégorie I).

Elle pourrait être abaissée pour le suivi des autres postes de travail. Ainsi, la valeur-guide à 2,60 µg/l préconisée par le Health and Safety Executive pourrait être, à terme, le critère de référence pour toutes les catégories de personnel. A noter que cette norme britannique correspond exactement au 90<sup>ème</sup> percentile des 424 valeurs de MDA mesurées dans les urines de fin de poste des 169 opérateurs suivis dans cette étude, tous postes confondus.

Reçu le : 15/03/2007

Accepté le : 27/07/2007

### Les auteurs remercient :

- les entreprises et les salariés qui ont collaboré à cette étude, ainsi que la Médecine du travail et les Caisses régionales d'assurance maladie concernées ;
- les laboratoires Chimie analytique et organique et Surveillance biologique de l'exposition aux substances inorganiques de l'INRS pour, respectivement, les dosages du taux de MDI monomère dans les produits commerciaux et de la créatinine.

## ANNEXE

### DÉTERMINATION DE LA 4,4'-MÉTHYLÈNEDIANILINE (MDA) URINAIRE.

Cette méthode a été décrite plus succinctement dans le cadre de la surveillance biologique de salariés exposés à la MDA [44]. Après quelques modifications, elle peut être utilisée pour effectuer le suivi de salariés exposés au MDI, moyennant une étape d'hydrolyse plus longue (24 heures au lieu d'une heure) et l'utilisation de la détection électrochimique (EC). La détection ultra-violette (UV) qui peut être mise en série, en amont de la détection EC, n'est pas assez sensible (limite de détection de 1,0 µg/l) pour distinguer les expositions professionnelles, mesurées aujourd'hui dans ces filières industrielles, du bruit de fond environnemental.

#### Hydrolyse de l'urine

Elle est réalisée sur une partie aliquote du recueil urinaire (20 ml), préalablement décongelée et placée dans un tube de culture à col fileté en verre borosilicaté de 40 ml avec bouchon et joint caoutchouc/PTFE, en milieu fortement basique par l'ajout de 4 grammes de NaOH en pastilles et portée, après dissolution complète de la soude sur un agitateur vortex, à 80°C au bain-marie pendant 24 heures.

#### Extraction urinaire

Elle est réalisée par deux extractions solide-liquide successives : la première sur colonne Extrelut® NT20 (Merck) et la seconde sur colonne d'extraction en phase solide (SPE) de chez Baker, échangeuse de cations faible, BAKERBOND Carboxylic Acid (CBA) de 500 mg.

#### Extraction sur colonne Extrelut®

Après 24 heures d'hydrolyse et remise à température ambiante, les 20 ml d'urine sont déposés sur la colonne Extrelut® et 15 à 20 minutes sont nécessaires pour imprégner la quasi-totalité de la phase de la colonne. L'élution est réalisée avec 40 ml de diéthyl éther Normapur (Prolabo) et l'éluat organique, environ 30 ml, est recueilli dans un tube à essai de verre borosilicaté (20 x 150 mm). Le tube à essai est alors placé dans un évaporateur à effet vortex Turbovap LV (Zymark) pour une

évaporation à sec de la phase étherée sous flux d'azote. Avec une température du bain-marie réglée à 30°C, cette opération dure environ 30 minutes.

#### Extraction sur colonne échangeuse de cations faible

Le résidu sec est repris avec 15 ml d'eau déionisée MilliQ® (Millipore) et déposé sur la colonne à l'aide d'un réservoir adapté. La colonne est préalablement conditionnée avec 3 ml de méthanol (environ 1 volume de la colonne) suivis de 3 ml d'eau déionisée. Le dépôt est réalisé sous vide sur une unité d'extraction permettant de traiter 20 extraits urinaires simultanément. Pour une bonne reproductibilité, la phase de la colonne ne doit pas sécher et la percolation doit se faire au goutte à goutte (environ 1 goutte à la seconde).

La colonne chargée est alors lavée avec 3 ml de méthanol, suivis de 3 ml d'eau déionisée.

1 ml d'un mélange acide chlorhydrique 0,02 M / méthanol (50/50) permet de décrocher la MDA fixée sur la phase CBA et l'éluat est recueilli dans une fiole jaugée de 2 ml complétée avec de l'eau déionisée (ce qui correspond à une concentration par 10 de l'échantillon urinaire de départ).

L'extrait aqueux est alors transféré dans un flacon ambré de 4 ml serti avec un bouchon muni d'un septum silicone/PTFE et conservé à 4°C jusqu'à l'analyse.

#### Analyse par CLHP (Chromatographie Liquide Haute performance)

Le dosage de la MDA est réalisé par CLHP avec le matériel suivant :

- une pompe haute pression Shimadzu LC-10AS®,
- un four colonne Shimadzu CTO-10AS® réglé à 40°C,
- un passeur d'échantillons automatique Waters Wisp 717+®,
- un détecteur électrochimique Waters 460®, utilisé en mode oxydation à 0,9 V avec une électrode de référence Ag/AgCl,
- une station d'acquisition et de traitement équipée du logiciel Millennium 32® (Waters).

L'analyse est réalisée en mode isocratique avec les conditions opératoires suivantes :

- volume injecté : 20 µl,
- durée d'analyse : 20 min,
- colonne analytique : Merck®, Lichrocart 250 x 4 mm, Lichrospher®, 5 µm, 60 RP Select B C8,
- éluant : mélange binaire d'acétonitrile et d'eau déionisée (30/70 en volume), additionnée à 0,4 %, d'une solution aqueuse d'acétate de sodium ajustée à pH 4,6 avec de l'acide acétique,
- débit : 1 ml/min,
- détection EC, potentiel d'oxydation à 0,90 V, électrode de référence Ag/AgCl.

Les déterminations de concentration sont effectuées par étalonnage externe. La gamme d'étalonnage est réalisée avec des urines de personnes non exposées au MDI et/ou à la MDA, surchargées avec de la MDA pour obtenir une gamme urinaire allant de 5 à 500 µg/l et soumises au protocole d'extraction et de concentration décrit ci-dessus. Pour être dans les mêmes conditions que les urines recueillies en entreprise, l'urine servant à construire la gamme est, préalablement aux ajouts de MDA, acidifiée à 10 g/l avec de l'acide sulfamique.

La méthode est linéaire dans la gamme de concentration étudiée, avec un rendement d'extraction (par rapport à une gamme d'étalonnage aqueuse non soumise à la procédure d'extraction) de l'ordre de 80 % et une limite de détection de 0,10 µg/l dans la matrice urinaire.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] ADEME - Étude du marché du polyuréthane et état de l'art de ses techniques de recyclage. Publications, thème : Déchets, Rapport final du 27 Juin 2003. Disponible sur : <http://www2.ademe.fr>
- [2] DHARMARAJAN V. - Occupational exposures to methylene bisphenylisocyanate (MDI): gaseous or aerosol? *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1979, 2, pp. 1-8.
- [3] ALLPORT D.C., GILBERT D.S., OUTTERSIDE S.M. - MDI and TDI: Safety, Health and the Environment. A Source Book and Practical Guide (2003). Wiley John and Sons Ltd, England.
- [4] European Chemicals Bureau (ECB) - Risk Assessment Final Draft: Methylendiphenyl diisocyanate 28 July 2003. BE Rapporteur : Mr. R. MOREAU, General Director, Service of Risk Management, R.A.C. Vesalius, Pachecolaan 19 box 5, B-1010 Brussels Belgium.
- [5] SENNBRO C.J., LINDH C.H., ÖSTIN A., WELINDER H., JÖNSSON BO A.G., TINNENBERG H. - A Survey of Airborne Isocyanate Exposure in 13 Swedish Polyurethane Industries. *Annals of Occupational Hygiene*, 2004, 48(5), pp. 405-414.
- [6] BILAN R.A., HAFLIDSON W.O., MCVITTIED.J. - Assessment of Isocyanate Exposure During the Spray Application of Polyurethane Foam. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1989, 50, pp. 303-306.
- [7] CRESPO J., GALAN J. - Exposure to MDI During the Process of Insulating Buildings with Sprayed Polyurethane Foam. *Annals of Occupational Hygiene*, 1999, 43, pp. 415-419.
- [8] CASTILLON K. - OSHA Compliance Issues: Overexposure to Methylene Bisphenyl Isocyanate (MDI) in a Motor Vehicles Parts Manufacturing Facility. *Applied Occupational Environmental Hygiene*, 2000, 15(3), pp. 251-252.
- [9] LOFGREN D.J., WALLEY T.L., PETERS P.M., WEIS M.L. - MDI Exposure for Spray-On Truck Bed Lining. *Applied Occupational and Environmental*, 2003, 18, pp. 772-779.
- [10] ACGIH - TLVs and BEIs. Threshold limit values for chemical substances and physical agents. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2006), Cincinnati, Ohio.
- [11] HEXT P.M., BOOTH K., DHARMARAJAN V., KAROLY W.J., PAREKH P.P., SPENCE M. - A comparison of the sampling efficiencies of a range of atmosphere samplers when collecting polymeric diphenylmethane diisocyanate (MDI) aerosols. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 2003, 18, pp. 346-357.
- [12] BERNSTEIN D.I., KORBEE L., STAUDER T., BERNSTEIN J.A., SCINTO J., HERD Z., BERNSTEIN I.L. - The low prevalence of occupational asthma and antibody-dependent sensitisation to diphenylmethane diisocyanate in a plant engineered for minimal exposure to isocyanates. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1993, 92(3), pp. 378-396.
- [13] JANG A.S., CHOI I.S., KOH Y.I., MOON J.D., LEE K.J. - Increase in airway hyperresponsiveness among workers exposed to methylene diphenyldiisocyanate compared to workers exposed to toluene diisocyanate at a petrochemical plant in Korea. *American Journal of Industrial Medicine*, 2000, 37, pp. 663-667.
- [14] VANDENPLAS O., MALO J.L., DUGAS M., CARTIER A., DESJARDIN A., LÉVESQUE J., SHAUGHNESSY M.A., GRAMMER L.C. - Hypersensitivity pneumonitis-like reaction among workers exposed to diphenylmethane diisocyanate (MDI). *American Review of Respiratory Disease*, 1993b, 147(2), pp. 338-346.
- [15] CARINO M., ALIANI M., LICITRA C., SARNO N., IOLI F. - Death due to asthma at workplace in a diphenylmethane diisocyanate-sensitized subject. *Respiration*, 1997, 64, pp. 111-113.
- [16] Chester D.A., Hanna E.A., Pickelman B.G., Rosenman K.D. - Asthma Death After Spraying Polyurethane Truck Bedliner. *American Journal of Industrial Medicine*, 2005, 48, pp. 78-84.
- [17] McALINDER J. - Isocyanates in Working Life, International Workshop organised by the Swedish National Institute for Working Life (NIWL): Isocyanates-Measurement Methodology, Exposure and Effects. April 26-28, 1999, Brussels.
- [18] AMEILLE J., PAULI G., CALESTRENG-CRINQUAND A., VERVLOET D., IWATSUBO Y., POPIN E., et al. - The corresponding members of the ONAP - Reported incidence of occupational asthma in France, 1996-99: the ONAP programme. *Occupational and Environmental Medicine*, 2003, 60, pp. 136-141.
- [19] RATTRAY N.J., BOTHAM P.A., HEXT P.M., WOODCOCK D.R., FIELDING I., DEARMAN R.J., KIMBER I. - Induction of respiratory hypersensitivity to diphenylmethane-4,4'-diisocyanate (MDI) in guinea pigs. Influence of route of exposure. *Toxicology*, 1994, 88, pp. 15-30.
- [20] KIMBER I., BERNSTEIN I.L., KAROLM.H., ROBINSON M.K., SARLO K., SELGRADE M.K. - Identification of respiratory allergens: workshop overview. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1996, 33, pp. 1-10.
- [21] TRGS 903 - Technische Regeln für Gefahrstoffe - Biologische Grenzwerte, Dezember 2006. Disponible sur le site web [www.baua.de](http://www.baua.de).
- [22] MAÎTRE A., STOKLOV M. - La biométrie: cas de l'exposition aux isocyanates. *Journées médicales du CISME*, 1997, Paris.
- [23] VAINIO H., ROSENBERG C., HIRVONEN A., NORPPA H. - International workshop on biomarkers for isocyanates - Meeting reports. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1999, 25(2), pp. 157-159.
- [24] ROSENBERG C., SAVOLAINEN H. - Exposition professionnelle aux diisocyanates organiques: surveillance biologique. *Cahiers de notes documentaires*, 1990, 140, pp. 682-685.
- [25] CEE - directive 93/72/CEE : 19<sup>ème</sup> adaptation au progrès technique de la directive 67/548/EEC du conseil du 16 Août 1967. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, 1993, L 258/29 Bruxelles.
- [26] EPA - Toxicological Review of Methylene Diphenyl Diisocyanate (MDI) (CAS No 101-68-8 and 9016-87-9) in Support of Summary Information on the integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency, 1998, Washington, DC.
- [27] HUNTER W.J., ARESINI G., HAIGH R., PAPADOPOULOS P., VON DER HUDE W. - Occupational exposure limits from chemicals in the European Union. *Occupational and Environmental Medicine*, 1997, 54, pp. 217-222.
- [28] HAGMAR L., WELINDER H., MIKOCZY Z. - Cancer incidence and mortality in the Swedish polyurethane foam manufacturing industry. *British Journal of Industrial Medicine*, 1993, 50, pp. 537-543.
- [29] HAGMAR L., STRÖMBERG U., WELINDER H., MIKOCZY Z. - Incidence of cancer and exposure to toluene diisocyanate and methylene diphenyl diisocyanate: a cohort based case-referent study in the polyurethane foam manufacturing industry. *British Journal of Industrial Medicine*, 1993, 50, pp. 1003-1007.

- [30] REUZEL P.G.L., ARTS J.H.E., LOMAX L.G., KUIJPER M.H.M., KUPER C.F., GEMBARDT C., FERON V.J., LÖSER E. – Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity study of respirable polymeric methylene diphenyl diisocyanate (polymeric MDI) aerosol in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1994, 22, pp. 195-210.
- [31] NORPPA H., BERNARDINI S., WIKMAN S., JARVENTAUS H., ROSENBERG C., BOLOGNESI C., HIRVONEN A. – Cytogenetic biomarkers in occupational exposure to isocyanates: influence of genetic polymorphisms of metabolic enzymes. Annual meeting of Environmental Mutagen Society 31<sup>st</sup> in *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2000, 35, Issue S31, p. 45.
- [32] ROMAZINI S. – Fonction respiratoire et symptômes des sujets exposés aux diisocyanates. *Thèse de doctorat en médecine*, 1993, Université Joseph Fourier, Faculté de Médecine de Grenoble.
- [33] SEPÁI O., HENSCHLER D., SABBIONI G. – Short-Communication: Albumin adducts, haemoglobin adducts and urinary metabolites in workers exposed to 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate. *Carcinogenesis*, 1995a, 16, pp. 2583-2587.
- [34] SCHÜTZE D., SEPÁI O., LEWALTER J., MIKSCHKE L., HENSCHLER D., SABBIONI G. – Biomonitoring of workers exposed to 4,4'-methylenedianiline or 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate. *Carcinogenesis*, 1995, 16(3), pp. 573-582.
- [35] SKARPING G., DALENE M., SVENSSON B.G., LITTORIN M., ÅKESSON B., WELINDER H., SKERFVING S. – Biomarkers of exposure, antibodies, and respiratory symptoms in workers heating polyurethane glue. *Occupational and Environmental Medicine*, 1996, 53, pp. 180-187.
- [36] DALENE M., SKARPING G., LIND P. – Workers Exposed to Thermal Degradation Products of TDI and MDI-Based Polyurethane: Biomonitoring of 2,4-TDA, 2,6-TDA, and 4,4'-MDA in Hydrolysed Urine and Plasma. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1997, 58, pp. 587-591.
- [37] LITTORIN M., RYLANDER L., SKARPING G., DALENE M., WELINDER H., STRÖMBERG U., SKERFVING S. – Exposure biomarkers and risk from gluing and heating of polyurethane: a cross sectional study of respiratory symptoms. *Occupational and Environmental Medicine*, 2000, 57, pp. 396-405.
- [38] KÄÄRIÄ K., HIRVONEN A., NORPPA H., PIIRILÄ P., VAINIO H., ROSENBERG C. – Exposure to 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate (MDI) during moulding of rigid polyurethane foam: determination of airborne MDI and urinary 4,4'-methylenedianiline (MDA). *Analyst*, 2001, 126, pp. 476-479.
- [39] ROSENBERG C., NIKKILÄ K., HENRIKS-ECKERMAN M.J., PELTONEN K., ENGSTRÖM K. – Biological monitoring of aromatic diisocyanates in workers exposed to thermal degradation products of polyurethanes. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002, 4, pp. 711-716.
- [40] CREELY K.S., HUGHSON G.W., COCKER J., JONES K. – Assessing Isocyanate Exposures in Polyurethane Industry Sectors Using Biological and Air Monitoring Methods. *Annals of Occupational Hygiene*, 2006, 50(6), pp. 609-621.
- [41] PETERSON J.C., ESTIVA E.C., LYTTLE D.S., HARRIS R.M. – High performance liquid chromatographic determination of 4,4'-methylenedianiline in human urine. *Journal of Chromatography for Biomedical Applications*, 1991, 564, pp. 205-212.
- [42] BRUNMARK P., PERSSON P., SKARPING G. – Determination of 4,4'-methylenedianiline in hydrolysed human urine by micro liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography for Biomedical Applications*, 1992, 579, pp. 350-354.
- [43] SKARPING G., DALENE M., BRUNMARK P. – Liquid chromatography and mass spectrometry determination of aromatic amines in hydrolysed urine from workers exposed to thermal degradation products of polyurethane. *Chromatographia*, 1994, 39(9-10), pp. 619-623.
- [44] ROBERT A., DUCOS P., FRANCIN 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.
- [45] MARAND A., KARLSSON D., DALENE M., SKARPING G. – Determination of amines as pentafluoropropionic acid anhydride derivatives in biological samples using liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Analyst*, 2004, 129, pp. 522-528.
- [46] API MDI/Polymeric MDI Emissions Reporting Guidelines For the Polyurethane Industry. Alliance for Polyurethanes Industry, 2002, 4, pp. 15-16.
- [47] JAFFÉ M. – Über der Niederschlag, welchen Pikriksäure in normalen Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des kreatinins. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 1886, 10, pp. 391-400.
- [48] HORNING 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.
- [49] PERKINS J.L., CUTTER C.N., CLEVELAND M.S. – Estimating the mean, variance and confidence limits from censored (< limit of detection), lognormally distributed exposure data. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1990, 51, pp. 416-419.
- [50] ROBERT A., DUCOS P., FRANCIN J.M., MARSAN P. – Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate (MDI) in 19 French polyurethane industries. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 2007, 80, pp. 412-422.
- [51] ROBERT A., DUCOS P., FRANCIN J.M. – Evaluation de l'exposition professionnelle à la 4,4'-méthylènedianiline (MDA) en France. *Cahiers de notes documentaires*, 1996, 165(4), pp. 467-474.
- [52] SENNBRO C.J., LINDH C.H., MATTSON C., JÖNSSON B.A.G., TINNENBERG H. – Biological monitoring of exposure to 1,5-naphthalene diisocyanate and 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 2006, 79(8), pp. 647-653.
- [53] MAÎTRE A., PERDRIX A. – Isocyanates. *EMC-Toxicologie Pathologie*, 2004, 1(4), pp. 186-193.
- [54] LEWALTER J., STEINMANN-STEINER-HALDENSTÄLT W. – Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin. Gentner Verlag, Stuttgart, 1994, pp. 329-334.
- [55] HSE – Biological monitoring for isocyanates. WATCH 2005/13. Disponible sur le site web : <http://www.hse.gov.uk/aboutus/hsc/iacs/watch/051005/13.pdf>, 17 Octobre 2005.