

2011.2829.5

Université de Montréal

**L'évaluation de l'exposition des pompistes au MMT
(méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle) utilisé dans
l'essence.**

par

Mouna Keiloun

**Département de médecine du travail et hygiène du milieu
Faculté de médecine**

**Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de**

**Maître ès science (M. Sc.)
en hygiène du travail et de l'environnement**

Février 2000

© Mouna Keiloun, 2000



WA

5

U58

2000

v.018

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

L'évaluation de l'exposition des pompistes au MMT
(méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle) utilisé dans
l'essence

présenté par :

Mouna Keiloun

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr. Robert Tardif, président du jury
Dr. Joseph Zayed, directeur de recherche
Dre. Michèle Rivard, co-directeur
Dr. Michel Gérin, membre du jury

Mémoire accepté le :

Sommaire

Le méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (MMT) est un dérivé organique du Mn. Il est fabriqué aux États-Unis par la compagnie Éthyl Corporation depuis 1950. Il a d'abord été utilisé comme supplément du plomb tétraéthyle dans l'essence, puis comme agent antidétonant pour améliorer la combustion du fuel et l'indice d'octane et limiter les émissions de fumée. En 1976, le MMT a été introduit au Canada avec une limite maximale recommandée de 18 mg Mn/L. Cependant, une étude récente a montré que les concentrations du MMT et du Mn dans l'essence sont de 26,5 et 6,5 mg/L respectivement.

En 1979, une étude a été réalisée à Toronto pour étudier la concentration atmosphérique de MMT. Elle a révélé la présence de MMT dans les stationnements souterrains à des concentrations atmosphériques qui variaient de 0,1 à 0,3 ng/m³ de Mn. Par contre, le MMT n'a pas été détecté dans les rues de Toronto. Une autre étude réalisée récemment dans plusieurs microenvironnements à Montréal a révélé que cette concentration variait entre 0,18 et 25 ng Mn/m³, la moyenne la plus élevée était 12 ng/m³ et se trouvait dans une station-service. Ces émanations proviennent à la fois du système d'échappement et du MMT évaporé de l'essence et non-brûlé. Elles ne doivent cependant pas être considérées comme étant des niveaux d'exposition personnelle.

Le but de cette recherche était donc d'évaluer l'exposition des pompistes au MMT en utilisant un système d'échantillonnage personnalisé.

L'exposition de 13 pompistes qui travaillaient dans deux stations de service à Montréal a été évaluée à plusieurs reprises (32 mesures). Les sujets devaient porter une pompe de prélèvement portable pendant deux heures. L'air pompé passait dans deux tubes connectés en série, recouverts

d'aluminium et remplis de Tenax TA avec de la laine de verre aux extrémités. Les échantillons étaient analysés par GC-AED. Des tests préliminaires ont pu déterminer un pourcentage élevé de recouvrement du MMT atteignant en moyenne 91,6%.

Les concentrations atmosphériques de MMT obtenues varient entre 0,3 et 10,8 ng Mn/m³. Elles se situent donc à des niveaux semblables à ceux obtenus précédemment dans les stations-service. Les résultats suggèrent fortement que le MMT est surtout obtenu par évaporation. Quant aux pompistes exposés au MMT, leur exposition même faible, ne peut pas nécessairement être considérée comme sans danger même avec des valeurs de presque 20 000 fois plus faibles que la TLV établie par l'ACGIH et qui vaut à 200 µg/m³. Pour cela, des études toxicologiques plus approfondies sont requises tout en tenant compte de certains points tels le nombre des échantillons, la durée de l'exposition, les conditions climatiques, les variations entre les stations ainsi que les variations interpersonnelles qui peuvent biaiser les résultats.

Mots clés : MMT, pompistes, essence, risque occupationnel.

Table des matières

Sommaire	ii
Table des matières	iv
Liste des tableaux	vi
Liste des sigles et abréviations	vii
Remerciements	ix

Chapitre I

Introduction	1
1.1 Historique	2
1.2 Propriétés physico-chimiques du MMT	4
1.2.1 Aspect physique	4
1.2.2 Demi-vie et décomposition	5
1.3 Combustion.....	6
1.4 Avantages de l'utilisation du MMT.....	6
1.5 Le risque pour la population générale.....	7
1.6 Toxicité du MMT.....	8
1.6.1 Métabolisme	9
1.6.2 Toxicité aiguë	10
1.6.2.1 L'injection intrapéritonéale	12
1.6.2.2 L'injection intraveineuse	13
1.6.2.3 Les applications cutanée et sous-cutanée.....	13
1.6.2.4 L'administration par voie orale	14
1.6.2.5 L'exposition par inhalation	15
1.6.3 Toxicités chronique et sub-chronique.....	15
1.6.4 Effets du phénobarbital sur la toxicité du MMT.....	17
1.7 Synthèse de la toxicité du MMT.....	18
1.8 L'analogue du MMT.....	21
1.8.1 La toxicité du CMT	21
1.8.2 Les effets cliniques et histologiques de CMT.....	22

1.9 Action synergique du MMT.....	22
1.10 Les principaux métabolites de MMT	23
1.11 Résumé.....	24
1.12 Objectif de recherche.....	26

Chapitre II

Évaluation de l'exposition des pompistes au méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (MMT) utilisé dans l'essence.....	27
EXPOSURE OF GAS ATTENDANTS TO METHYLCYCLOPENTADIENYL MANGANESE TRICARBONYL (MMT) USED IN GASOLINE. Manuscrit soumis au journal Environmental Toxicology and Chemistry.....	28
Abstract	29
Introduction	30
Methods.....	32
Results	34
Discussion	35
Acknowledgements	37
References	38
Table 1. Operation parameters of the GC-AED system.....	41
Table 2. Recovery of MMT by Tenax TA.....	42
Table 3. Atmospheric MMT concentrations.....	43
Figure 1. Distribution of MMT atmospheric concentrations.....	44

Chapitre III

Discussion.....	46
-----------------	----

Chapitre IV

Références	50
------------------	----

Liste des tableaux

Tableau I : Doses ou concentrations létaux (DL_{50} , CL_{50}) observées chez des animaux de laboratoire pour le MMT et son analogue le CMT.....	11
Tableau II : Études sur la toxicité de MMT par inhalation.....	25

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Mn : Manganèse

MMT : Méthylcyclopentadiényle Manganèse Tricarbonyle

CMT : Cyclopentadiényle Manganèse tricarbonyle

SNC : Système Nerveux Central

GPT : Glutamic-Pyruvic Transaminase

PTFE : Poly Tetra Fluoro Ethylene

TLV-TWA : Threshold Limit Value - Time Weighted Average; concentration moyenne d'une substance dans l'air ambiant à ne pas dépasser et ne produisant aucun effet nocif sur la santé pour une exposition de 8 heures / jour, 5 jours / semaine, pour un travailleur peut être exposé jour après jour pendant toute sa vie professionnelle.

CGSB : Canadian General Standards Board

ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienist

U.S. EPA : United States Environmental Protection Agency

O.M.S. : Organisation Mondiale de la Santé

N.R.C. : National Research Council

SEM : Scanning Electron Microscopy

EDS : Energy Dispersive Spectrometry

ATEM : Analytical Transmission Electron Microscopy

GC-AED : Gas Chromatography - Plasma Atomic Emission Detection

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche, docteur Joseph Zayed qui a contribué à mon évolution dans le domaine scientifique, docteur Fan Yang pour ses précieux conseils et madame France Gagnon pour son apport technique.

Je tiens à remercier mon cousin, le docteur Salim Adib, qui m'a encouragée et appuyée tout au long de mes démarches professionnelles.

Je voudrais aussi remercier mon époux pour sa patience. Il a su être là aux moments où j'en avais tant besoin.

Je ne peux oublier aussi tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette recherche. Un grand merci à tous.

CHAPITRE I
INTRODUCTION

1.1 Historique

Le méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (MMT) est un dérivé organique du Mn (Cooper, 1984). Il est fabriqué aux États-Unis, dans l'état de la Caroline du Sud, par la Corporation Ethyl, depuis 1950. Ce composé est aussi connu comme AK-33X (Antiknock-33X), CI-2 (Combustion Improver-2) ou HITEC 3000. Le MMT commercial contient du Mn dans une proportion de 24,8% (N.R.C., 1973; Moore *et al.*, 1974; Environment Canada, 1987; Ethyl Corporation, 1990). D'abord utilisé comme supplément du plomb tétraéthyle dans l'essence (OMS, 1981), il a été employé depuis 1960, comme agent antidétonant dans les cylindres des moteurs à explosion. Ainsi employé, il améliore la combustion du fuel et l'indice d'octane et limite les émissions de fumée (Hinderer, 1979; Cooper, 1984; Ethyl Corporation, 1990). Un ajout de 10 à 100 mg de MMT à un litre d'essence réduit de 50 à 90% les émissions de particules et de fumée (Craig, 1986; Gaird *et al.*, 1992). En 1974, les États Unis ont commencé à le commercialiser comme additif dans l'essence sans plomb. En 1976, presque 20% des carburants américains ne contenaient plus de plomb et 40% de ces carburants sans plomb renfermaient du MMT à une concentration moyenne de 10,56 mg/L en équivalent Mn. Il est à noter que la concentration maximale recommandée par la Corporation Ethyl pour le manganèse dans l'essence est 33 mg/L (Health and Welfare Canada, 1978).

En 1976, le Canada a introduit le MMT dans l'essence avec une limite maximale recommandée de 18 mg Mn/L pour les carburants avec ou sans plomb. Cependant, une étude récente a montré que les concentrations du MMT et du Mn dans l'essence sont respectivement 26,5 et 6,5 mg/L (Zayed *et al.*, 1999b). En 1990, le gouvernement fédéral a recommandé de retirer le plomb de toute l'essence ce qui a fait que l'utilisation du MMT a augmenté de façon substantielle au cours des dernières années (Hurley *et al.*, 1992). Depuis 1990, le Canada est le seul pays au monde à utiliser presque

exclusivement le MMT comme agent antidétonant dans l'essence sans plomb.

Aux États-Unis, la demande d'Ethyl Corporation de remplacer le plomb dans l'essence par le MMT a été rejetée à plusieurs reprises pour des raisons techniques telles que l'usure plus rapide du catalyseur et la perturbation du fonctionnement du système électronique de contrôle des émissions (U.S. EPA, 1990). En 1994, l'U.S. EPA a rejeté de nouveau la demande de la Corporation Ethyl en se basant cette fois sur l'impossibilité de conclure quant au risque pour la santé publique associé à l'utilisation du MMT dans l'essence.

L'utilisation du MMT a été approuvée en Argentine, Australie, Bulgarie, France, Russie et en Nouvelle Zélande sous certaines conditions. Cependant certains scientifiques continuent à suggérer que la combustion du MMT puisse être une source importante pour l'exposition au manganèse inorganique dans les régions urbaines. Il est donc important de savoir s'il existe des effets toxiques dus à la contamination manganique provoquée par l'utilisation répandue du MMT.

Certaines études ont tenté d'évaluer le niveau de contamination environnementale du manganèse provenant de la combustion du MMT dans les systèmes biotiques et abiotiques ainsi que l'exposition humaine. Ces études ont montré que l'air près des routes, le sol, les plantes et les animaux peuvent être contaminés par le Mn (Loranger *et al.*, 1994a,b; Brault *et al.*, 1994), et que certains groupes de population sont aussi exposés à un niveau élevé de manganèse, bien que ce niveau soit le plus souvent inférieur à la valeur internationale recommandée (Zayed *et al.*, 1994; Sierra *et al.*, 1995; Loranger et Zayed, 1995). Une étude a été réalisée dans le but d'estimer la contribution du MMT à la concentration atmosphérique du manganèse inorganique près d'une autoroute à Montréal. Les résultats ont montré que le

MMT contribue à près de 50% de la concentration atmosphérique du Mn à une distance de 25 m de l'autoroute, mais à moins de 8% lorsque la distance atteint les 250 m (Loranger *et al.*, 1995). Toutefois, il était difficile de distinguer le Mn généré d'une autre source de celui relié aux produits de la combustion du MMT (0,2-0,4 μm) à cause de l'agglomération de ces derniers avec d'autres substances telles les sulfates (Loranger *et al.*, 1996).

En 1997, le Canada a adopté la loi (C-29) par laquelle il bannissait le commerce inter-provincial et l'importation pour usage commercial de substances à base de manganèse incluant le MMT. Ottawa a entrepris ses propres poursuites en vertu de l'accord sur le commerce inter-provincial après que l'industrie automobile se soit plainte de ce que la présence du MMT allait à l'encontre des dispositifs antipollution des voitures. Comme le Canada utilisait largement le MMT et qu'il possédait de grosses réserves, six provinces canadiennes ont pris le défi de contester cette loi devant les tribunaux. En juillet 1998, faute de preuves scientifiques solides, le gouvernement fédéral a décidé de lever l'interdiction décrétée sur l'importation de l'additif pour le carburant MMT et son commerce entre les provinces (La Presse, 1998).

1.2 Propriétés physico-chimiques du MMT

1.2.1 Aspect physique

Le MMT est un liquide volatil orangé ayant une odeur herbacée. Il est soluble dans l'eau dans des proportions de 70 mg/L à 25 °C (Moore *et al.*, 1974; Hinderer, 1979; McGinley *et al.*, 1987) et dans les solvants organiques. À 20 °C, sa pression de vapeur est faible : $4,7 \times 10^{-2}$ mmHg, sa gravité spécifique est de 1,39 g, sa densité est de 1,38 g/mL et sa viscosité est de 5,0 [Cp SUS] (Hinderer, 1979). Les points d'ébullition, de fusion et de congélation sont respectivement 232,8 , 1,5 et -2,2 °C. Le MMT est beaucoup moins volatil

que l'essence, ce qui fait que les évaporations émises du réservoir d'essence sont faibles et ne sont pas considérées, a priori, comme des sources importantes d'émissions de Mn (Environment Canada, 1987).

Sa formule chimique est $C_9H_7MnO_3$, son poids moléculaire est de 218,1 sa valeur limite d'exposition (TLV : threshold limit value) établie selon l'ACGIH est de $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en équivalent Mn (ACGIH, 1998) et une mise en garde pour l'exposition professionnelle "cutanée" avec une valeur de 0,1 ppm (Health and Welfare Canada, 1978).

1.2.2 Demi-vie et décomposition

Le MMT est un produit stable mais se décompose photo-chimiquement avec une demi-vie approximative de 15 secondes (Hysell *et al.*, 1974). La décomposition du MMT est active lorsque la longueur d'onde de la lumière est entre 340 et 440 nm, c'est-à-dire en présence de la lumière du soleil, même par temps nuageux (Ter Haar *et al.*, 1975). Le MMT se décompose dans la lumière intérieure avec une demi-vie approximative de 3-4 jours (Chau *et al.*, 1999). Selon certaines études, la demi-vie du MMT peut être plus longue que 5 mois lorsque le produit pur se trouve à l'obscurité et dans le système sédimentaire et aquifère. Elle peut varier entre 0,2 et 1,5 ans dans les matériaux aquifères à 25°C (U.S. EPA, 1991; Garrison *et al.*, 1995). Ceci peut augmenter la possibilité de contamination de l'eau de consommation et des organismes aquatiques marins, et favoriser la bio-accumulation dans les nourritures, entraînant un impact sur les populations humaines.

La photo-décomposition de MMT produit un mélange d'oxydes, de carbonates et du carbonyle de manganèse qui s'oxydent rapidement pour donner le hausmannite (Mn_3O_4) et le monoxyde de carbone (CO). Les produits de décomposition contiennent aussi une partie organique composée d'un mélange d'acides, d'esters et des polymères d'hydrocarbures dus à

l'oxydation partielle de l'anneau cyclopentadiényle, aux réactions de l'insertion de CO et à la polymérisation des composés multifonctionnels (Ter Haar *et al.*, 1975; Health and Welfare Canada, 1978; Garrison *et al.*, 1995).

1.3 Combustion

Jusqu'à tout récemment, on estimait que la combustion du MMT entraînait la formation d'oxydes de manganèse inorganique. L'hausmannite formait 99% du produit (Ter Haar *et al.*, 1975; Cooper, 1984; Abbott, 1987; Lynam *et al.*, 1990) avec des traces de monoxyde (MnO), dioxyde (MnO₂) et trioxyde (Mn₂O₃) de manganèse. Récemment, une étude a été réalisée dans le but de caractériser les particules qui contiennent du Mn, captées du système d'échappement des véhicules qui utilisent l'essence avec du MMT. Ces particules ont été observées par SEM pour voir leur taille et leur morphologie, déterminées par le détecteur EDS et caractérisées par ATEM. Les résultats obtenus nous révèlent que le MMT brûlé est rejeté sous forme de mélange amorphe de phosphate et de sulfate de Mn avec une taille qui varie entre 0,2 et 10 µm. L'ATEM nous montre que les éléments ou atomes présents sont le manganèse, l'oxygène, le phosphore et le soufre avec une intensité descendante de sommet indiquant que le phosphate de Mn est le principal composant (Zayed *et al.*, 1999a).

1.4 Avantages de l'utilisation du MMT

Des tests effectués par Ethyl Corporation avec la collaboration de l'U.S. EPA pendant deux ans, devaient évaluer et documenter l'effet de l'additif sur les émissions des gaz d'échappement, et déterminer les implications de son utilisation sur la qualité de l'air. Quarante huit véhicules ont été testés opérant au total plus de 3 millions de milles. La moitié de ces véhicules utilisaient de l'essence sans MMT alors que l'autre moitié utilisaient la même essence mais avec du MMT comme additif. Les émissions de gaz d'échappement ont été

testées à chaque 5000 milles. Les résultats ont montré que l'utilisation du MMT peut contribuer à la réduction de 20% de l'émission des oxydes d'azote (NOx), de 7% celle du monoxyde de carbone, et de certaines substances cancérigènes (le benzène, le formaldéhyde, le 1,3 butadiène et l'acetaldehyde). Ces réductions seules sont suffisantes pour réduire la sévérité des problèmes d'ozone dans les villes où le problème existe (Ethyl Corporation, 1990; Hunton et Williams, 1994). De plus, l'utilisation de cet additif réduit la consommation de l'énergie et les particules émises par les raffineries de presque 3% annuellement ou environ 11000 tonnes par année, contribuant ainsi à contrer le réchauffement global (Hunton et Williams, 1994).

La corporation Ethyl estimait qu'en 1999 l'utilisation du MMT comme additif pourrait réduire les émissions de polluants d'environ 1,7 billion de livres par année (8% du total des polluants). Par contre, une étude récente a été réalisée afin d'évaluer la contribution du MMT de source mobile au niveau de CO et du NOx émis dans l'atmosphère. Cette étude a révélé que les véhicules qui utilisaient l'essence avec du MMT ont dégagé plus de CO et de NOx comparativement aux véhicules qui utilisaient l'essence sans MMT (Zayed *et al.*, 1999b). Ces changements ont été considérés statistiquement non-significatifs à cause de la petite taille des échantillons et de la forte émission provenant de l'un des véhicules qui utilisait l'essence avec du MMT. Cependant, certains points concernant les véhicules (ex. le modèle, l'année de fabrication et la condition mécanique) doivent être pris en considération durant les études ultérieures car ils peuvent affecter les résultats.

1.5 Le risque pour la population générale

L'exposition professionnelle au MMT peut avoir lieu durant la production, la phase de mélange avec l'essence ou durant le pompage. L'exposition de la population générale à ce produit est limitée à son inhalation dans l'air

ambiant ou dans le mélange de vapeurs d'essence dans les stations d'essence. Le risque dû à l'utilisation du MMT dans l'essence, pour la population générale, paraît extrêmement faible (Wood et Egyed, 1994) à cause de la basse concentration du MMT dans l'essence et des faibles évaporations émises. En 1979, le MMT n'a pas été détecté dans l'air ambiant des rues de Toronto. Mais, il a été observé dans les stationnements souterrains, à une concentration de 0,1 à 0,3 ng/m³ (Coe *et al.*, 1980). La combustion de MMT dans l'essence augmente le niveau de manganèse dans l'air ambiant. Toutefois, ce niveau reste inférieur à celui requis pour produire les symptômes de l'intoxication au manganèse même dans les sites où la densité du trafic est haute. Ainsi, le risque pour la population générale semble faible (Abbott, 1987).

En 1986, le Canadian General Standards Board a conclu qu'il n'existait aucun problème sérieux de santé publique lié à l'utilisation industrielle de MMT en se basant sur une revue des effets de l'utilisation du MMT dans l'essence au Canada (CGSB, 1986).

Au Canada, on ajoutait 40 mg de MMT qui contenait 10 mg de Mn à chaque litre d'essence. Mais une étude récente a montré que la concentration du MMT et du Mn dans l'essence étaient respectivement 26,5 mg/L et 6,5 mg/L (Zayed *et al.*, 1999b) bien au-dessous de la limite recommandée.

1.6 Toxicité du MMT

La toxicologie du MMT a un intérêt considérable à cause de la grande utilisation du produit comme agent antidétonant dans l'essence sans plomb. Quand on évalue la toxicité potentielle d'un produit, il faut tenir compte à la fois de l'exposition professionnelle aux composés initiaux et de l'exposition de la population générale à leurs produits de combustion. Comme seule une petite quantité du composé initial est rejetée dans l'atmosphère et qu'elle est

rapidement décomposée par des réactions photochimiques en divers produits, l'exposition au MMT risque davantage de constituer un danger professionnel qu'un danger pour le grand public. Cependant, cet additif dans l'essence peut se traduire en général par un renforcement de l'exposition de la population générale aux produits de combustion, constitués essentiellement de manganèse particulaire, qui contribuera à accentuer la pollution de l'atmosphère des villes.

Il est à noter que le risque d'intoxication au MMT est plus fort dans un endroit fermé que dans une place bien aérée. Il est plus risqué d'être exposé et intoxiqué par voie cutanée que par n'importe quelle autre voie, et plus par inhalation que par ingestion (U.S. EPA, 1997). Il suffit de savoir que juste 3% du manganèse ingéré est absorbé par le système gastro-intestinal, alors que plus de 40% du manganèse inhalé est absorbé (Hunton et Williams, 1994). En plus, le sang qui quitte les intestins passera directement au foie qui éliminera par voie biliaire la plupart du manganèse absorbé et donc réduira la concentration du Mn sanguin qui éventuellement viendra en contact avec le cerveau. Au contraire, le sang qui quitte les poumons, se dirigera vers le cœur et puis directement au cerveau sans passer par le foie, et donc 100% du Mn absorbé se trouvera dans les différents organes cibles.

1.6.1 Métabolisme

Le MMT peut être absorbé par les poumons, la peau et les intestins en quantités suffisantes pour produire de sérieux problèmes et même la mort chez les animaux de laboratoire. Son métabolisme a été plusieurs fois étudié. Suite à une administration intra-gastrique d'une dose unique de 2,5 mg de MMT marqué au ^{54}Mn , les tissus et les organes du rat présentent une répartition caractéristique du manganèse minéral, en ce sens que la concentration la plus élevée s'observe au niveau du foie, des poumons, des reins et du pancréas, et dans une moindre mesure dans les tissus adipeux de

l'abdomen. Cette augmentation est cependant relativement courte. À titre d'exemple, la demi-vie du Mn dans le tissu hépatique n'est que de 25 jours.

In vitro, le MMT est métabolisé rapidement dans les homogénats de foie et de poumon des rats produisant un produit hydrosoluble (Moore *et al.*, 1974). Le métabolisme du MMT est effectué par les enzymes cytochromes P-450 mono-oxygénases NADPH-dépendant (Hanzlik *et al.*, 1980a). Une grande partie du MMT est excrétée dans l'urine et les selles. Presque 70% du MMT administré chez des rats est excrété dans l'urine en forme de métabolites avec des chaînes hydroxyles ou carboxyles (Hanzlik *et al.*, 1980a). L'excrétion du MMT est rapide; par exemple 73% d'une dose orale est excrétée dans les premières 24 heures, et 36% de cette quantité est présente dans l'urine (Health and Welfare Canada, 1978). Le rapport entre les quantités de manganèse présentes dans les urines par rapport à celles dans les selles varie de 0,25 à 0,68. L'absence de MMT dans les selles témoigne la biotransformation de ce composé (Moore *et al.*, 1974).

Bien que l'analyse de l'urine et des selles nous indique que le MMT est métabolisé et que le manganèse est excrété sous sa forme inorganique, on ne peut généraliser l'utilisation du Mn sanguin ou urinaire comme indicateur biologique de l'exposition récente ou à long terme au Mn. C'est parce que la manganémie n'est pas proportionnelle à la présence des symptômes psychologiques ou neurologiques (Roels *et al.*, 1987) et de la rapide clairance du Mn dans le sang ($t_{1/2} = 1,5$ min).

1.6.2 Toxicité aiguë

Plusieurs études ont été effectuées afin d'établir la dose létale suite à une exposition aiguë au MMT, pour diverses espèces animales. Elles sont présentées au tableau I.

Tableau I: Doses ou concentrations létaux (DL50, CL50) observées chez des animaux de laboratoire pour le MMT et son analogue le CMT.

Produit	Voie d'administration	Animal	DL50 (mg/kg)	CL50 (mg/m ³)	Référence
MMT	P.C.	Lapin	1690 [24 h]		Ethyl Corporation, 1972
"	"	Lapin	140-795		Hinderer, 1979
"	"	Rat	665		Pfizer et al., 1972
MMT	I.V.	Lapin	6.6		Pfizer et al., 1972
MMT	P.O.	Lapin	95		Pfizer et al., 1972
"	"	Cobaye	905		" "
"	"	Rat (F,M)	89 , 175		" "
"	"	Souris (F+M)	352		" "
"	"	Souris (F)	230		Hinderer, 1979
"	"	Rat (F,M)	23 , 39		" "
"	"	Rat	58		" "
"	"	Rat	23-58		Ethyl Corporation, 1976
"	"	Rat	58 [14 j]		Hysell et al., 1974
"	"	Rat	50 [14 j]		Hanzlik et al., 1980b
CMT	"	Souris	150		O.M.S., 1981
"	"	Rat	80		" "
"	"	Rat	22 (19-26)		Penny et al., 1985
MMT	I.P.	Souris	999 [2 h]		Fishman et al., 1987
"	"	Souris	152 [2 h]		" "
"	"	Souris	138 [2 s]		Hakkinen et al., 1982
"	"	Hamster	270 (213-341)		" "
"	"	Rat	6 (4-8)		" "
"	"	Rat	23 [14 j]		Hanzlik et al., 1980b
"	"	Rat	12.1		Cox et al., 1987
CMT	"	Rat	14 (10-20)		Penny et al., 1985
MMT	Inh (1h.)	Rat		220-247	Ethyl Corporation, 1976
"	Inh. (1h.)	Rat		247	Hinderer, 1979
"	Inh. (4h.)	Rat		76	" "
CMT	Inh. (2h.)	Rat		120 (CL80)	O.M.S., 1981

P.C.: voie cutanée; I.V.: injection intraveineuse; P.O.: voie orale; I.P.: injection intrapéritonéale; Inh.: inhalation.

Les résultats de ces études montrent de grandes variations au niveau de la dose létale (DL_{50}), allant de 6 à 1690 mg/kg. Ces variations peuvent être attribuées en grande partie aux choix méthodologiques effectués dans les protocoles expérimentaux en ce qui concerne l'espèce animale, l'âge, la voie d'administration, la durée d'exposition et le véhicule. Toutefois, les signes et les symptômes sont semblables et cette toxicité entraîne, dépendant de la dose et de la voie d'administration, la mort de l'animal.

1.6.2.1 L'injection intrapéritonéale

Suite à une injection intrapéritonéale de MMT de 20 mg/kg à des rats (équivalent à la DL_{50} à 14 jours pour cette voie), on peut remarquer de sérieux changements au niveau des poumons: oedèmes, hémorragies alvéolaires et périvasculaires. De plus, le ratio poids des poumons par rapport au poids du corps (l'indice de la toxicité pulmonaire) augmente pendant 72 heures atteignant 3,5 fois la valeur chez les rats témoins. On retrouve des dommages minimes au foie et aux reins comparativement aux poumons. Ceux-ci sont expliqués par l'absence d'effet du MMT sur le GPT plasmatique, les triglycérides et l'activité du glucose-6-phosphatase hépatique (Hanzlik *et al.*, 1980b).

En 1987, Fishman *et al.* ont étudié les effets neurotoxiques du MMT sur les souris, en observant l'augmentation de leur agressivité « seizure activity ». Dans cette étude, les souris ont été traitées par du propylène glycol ou de l'huile de maïs contenant du MMT. La DL_{50} (2 heures) associée avec l'augmentation de l'agressivité était plus faible chez les souris qui reçoivent le MMT dans le propylène glycol (152 mg/kg) que chez celles qui reçoivent le MMT dans l'huile de maïs (999 mg/kg). Cependant une autre étude a montré que la DL_{50} (2 semaines) des souris traitées par injection intrapéritonéale de MMT dans l'huile de maïs est de 138 mg/kg (Hakkinen *et al.*, 1982). Cette différence entre ces résultats peut être attribuée à la différence de l'organe

cible en fonction de la dose de MMT. On remarquera notamment qu'une dose unique et très forte de MMT induira une toxicité au niveau du CNS, alors que les doses les plus faibles induiront plutôt une toxicité pulmonaire (Fishman *et al.*, 1987).

Des injections intrapéritonéales à des rats ont permis de déterminer que la DL₅₀ est de 12,1 mg/kg (Cox *et al.*, 1987). Chez presque tous les rats, on pouvait remarquer la présence de convulsions suivies d'un œdème hémorragique pulmonaire qui finit par la mort de l'animal.

1.6.2.2 L'injection intraveineuse

L'injection intraveineuse du MMT à des rats peut stimuler le système nerveux sympathique entraînant l'hypertension, une augmentation des catécholamines plasmatiques et la formation d'œdèmes pulmonaires (Cox *et al.*, 1985). Elle peut causer aussi des convulsions et des hémorragies pulmonaires qui entraînent la mort de l'animal.

1.6.2.3 Les applications cutanée et sous-cutanée

En 1976, Ethyl Corporation a fait une mise en garde à l'effet qu'une mauvaise manipulation de ce produit produisant un contact cutané entre 5 et 30 minutes peut conduire à une variété de symptômes parmi lesquels se trouvent la céphalée, la nausée, la dyspnée et le goût métallique, ces symptômes disparaissent au bout de deux heures. Mais si l'exposition persiste durant 90 minutes, on remarquera une augmentation rapide du niveau de manganèse dans l'urine (46-137 µg/L) lequel retournera à son niveau normal en deux semaines (2-30 µg/L), sans entraîner aucun changement à l'examen physique ou neurologique.

Cependant, une injection unique sous-cutanée de 4 mg/kg chez des rats augmente le niveau du Mn dans les poumons, les reins, le foie et le sang entre 1,5 et 96 h après l'injection avec un sommet entre 3 et 6 heures. Dans les premières 24 heures, les niveaux de Mn dans les poumons sont 13 fois plus élevés que dans le sang, tandis que ceux des reins et du foie sont de 4 fois plus élevés que le sang (McGinley *et al.*, 1987). Le niveau élevé observé lors du lavage des protéines pulmonaires 24-48 heures après l'injection indique des dommages alvéolaires (Henderson, 1984). L'accumulation du Mn au niveau des poumons et la présence de dommages pulmonaires suggèrent la présence d'une relation cause-effet (McGinley *et al.*, 1987). Par ailleurs, les niveaux de l'urée plasmatique et de la sorbitol déshydrogénase restent presque inchangés, ce qui laisse suggérer l'absence de dommages au niveau du foie et des reins.

Une étude réalisée sur des lapins pour déterminer la DL₅₀ pour la voie cutanée montre que celle-ci est de 1690 mg/kg pour une journée d'exposition (Ethyl Corporation, 1972). Plus récemment, les valeurs de DL₅₀ obtenues variaient entre 140 et 795 mg/kg pour la même espèce animale (lapin) (Hinderer, 1979). Cette grande variabilité peut être expliquée par la présence d'impuretés dans les échantillons et les matériaux utilisés (Hinderer, 1979).

1.6.2.4 L'administration par voie orale

Hinderer (1979) a montré que les rats sont plus sensibles que les souris au MMT lorsqu'ils sont exposés à ce produit par la voie orale. La DL₅₀ des souris femelles était de 230 mg/kg alors que celle des rats était de 58 mg/kg. Cette dernière était similaire à celle obtenue par Hysell *et al.* en 1974. Et selon le taux de mortalité, la sensibilité est plus prononcée chez les femelles que chez les mâles pour les rats et pour les souris. Cela s'appuie aussi sur les résultats des études précédentes qui avaient démontré que la DL₅₀ des rats femelles et mâles sont respectivement de 23 et 39 mg/kg.

Dans une autre étude sur les effets toxiques du MMT chez des rats, on a montré que la DL₅₀ (14 jours) pour cette voie était de 50 mg/kg. Celle-ci était accompagnée par un indice de toxicité pulmonaire élevé (ratio du poids des poumons par rapport au poids du corps) et des changements histopathologiques aux reins, au foie et aux poumons. De plus, des œdèmes et des hémorragies pulmonaires entraînaient souvent la mort de l'animal (Hanzlik *et al.*, 1980b).

1.6.2.5 L'exposition par inhalation

Une série d'expériences réalisées sur des rats, a révélé qu'une exposition à des concentrations de 125 à 347 mg/m³ pour 10-60 minutes entraînait de sévères tremblements et, de légères convulsions après 15 minutes d'exposition. Une exposition à des concentrations de 220 à 680 mg/m³ pour des périodes plus longues entraînait de violentes convulsions durant 5 minutes et se terminait par la mort de l'animal en 30-40 minutes (Pfitzer *et al.*, 1972). Ces expériences ont été refaites sur d'autres espèces comme les souris, les porcs, les lapins et les chats. Les analyses pathologiques ont montré des changements similaires entre les différentes espèces. Les reins et le foie sont les organes les moins touchés comparativement aux poumons.

Hinderer a démontré en 1979 que la CL₅₀ des rats est de 247 mg/m³ pour une exposition d'une heure et qu'elle diminue à 76 mg/m³ pour une exposition de 4 heures.

1.6.3 Toxicités chronique et sub-chronique

Le MMT est un dérivé organique du Mn ce qui favorise son absorption et explique sa toxicité plus prononcée par rapport au Mn inorganique. Et pourtant, on connaît peu les effets toxiques d'une exposition chronique à ce produit.

Une étude en 1972 a montré que l'inhalation d'une concentration de 15 mg/m³, 7 heures/jour, durant 150 jours au total, était fatale pour des souris et des rats tandis qu'aucun animal n'était mort quand la concentration avait été abaissée à 6 mg/m³ (Pfitzer, 1972). Deux études semblables à celle-ci ont été réalisées en 1976. Dans la première, des chats, des lapins, des porcs, des rats et des souris ont été exposés au MMT à une concentration de 6,4 mg/m³, 7 heures/jour, durant 150 jours au total, et dans la deuxième, des chiens ont été exposés à une concentration de 12 mg/m³, 7 heures/jour, durant 100 jours au total. Aucun effet toxique n'est apparu dans les deux études, probablement à cause de l'excrétion urinaire, 95% ou plus du Mn étant éliminé en 72 heures. Ces études ont révélé aussi que le Mn s'accumule dans le foie, les reins et les poumons d'une façon proportionnelle au niveau de l'exposition. Le manganèse augmente initialement dans les urines mais retourne rapidement à son niveau de départ à l'arrêt de l'exposition (Ethyl Corporation, 1976).

En 1992, une étude sur les effets d'une exposition orale chronique à des doses relativement grandes de MMT a été réalisée sur des souris, nourries pendant un an avec 0,5 g Mn/kg d'aliment. Les résultats témoignent d'une hyperactivité vers le 80^{ème} jour de l'expérience, puis une diminution et une détérioration vers la fin de l'expérience à un niveau plus bas que le niveau initial. De plus, à partir du 9^{ème} mois, une suppression significative de poids a été remarquée. Le Mn sanguin était 8 fois plus élevé que celui des souris témoins (Komura et Sakamoto, 1992). Le Mn s'est accumulé dans les reins et à un moindre degré dans le foie, la glande thyroïde et la prostate (1,5-4,4 fois plus que chez les souris témoins).

Une étude sur des rats a été effectuée dans le but d'identifier les effets d'une inhalation sub-chronique à la concentration de 30 mg MMT/m³. Les analyses ont révélé un niveau élevé de phosphatases alcalines dans le sérum et un

œdème hémorragique pulmonaire causant la mort (Huntingdon Research Center, 1978). Une autre étude sur l'exposition sub-chronique chez des souris au MMT à des concentrations de 0,075-7,65 mg/m³, 6 heures/jour pendant 90 jours a révélé aussi une augmentation importante de la phosphatase alcaline dans le sérum (Pfitzer *et al.*, 1978).

Cependant, à l'heure actuelle, les données concernant les effets sur la santé résultant d'une exposition prolongée de l'homme à de faibles concentrations atmosphériques de MMT ne suffisent pas pour qu'on puisse se prononcer sur les dangers éventuels qui pourraient découler d'une généralisation notable de l'emploi des manganèses tricarbonyles dans l'essence.

1.6.4 Effets du phénobarbital sur la toxicité du MMT

Les expériences sur les rats ont montré que le MMT est toxique par n'importe quelle voie d'exposition, et qu'il cause des dommages aux poumons, au foie et aux reins. Un pré-traitement avec le phénobarbital augmente la résistance de ces animaux aux effets toxiques pulmonaires et diminue de 2,5 fois les effets létaux de la dose DL₅₀ du MMT (Hanzlik *et al.*, 1980b). Pour étudier l'effet protecteur du phénobarbital, dix rats ont été pré-traités puis exposés oralement au MMT. Les dix rats ont survécu au moins 14 jours après une dose orale de 125 mg/kg, tandis que neuf sur dix contrôles ont péri durant le deuxième et le troisième jours après l'exposition à la même dose avec une augmentation remarquable de l'indice de toxicité pulmonaire. Une explication probable est que l'effet de premier passage hépatique a diminué la concentration de MMT dans la circulation sanguine (Hanzlik *et al.*, 1980b). De plus, le phénobarbital a doublé la vitesse de l'excrétion biliaire des métabolites de MMT dans le groupe des animaux pré-traités ce qui confère à ce produit l'effet protecteur contre les effets toxiques du MMT (Hanzlik *et al.*, 1980a).

1.7 Synthèse de la toxicité du MMT

La valeur de la DL_{50} varie grandement dépendant de l'espèce, de la voie d'administration et du véhicule, mais les signes et les symptômes qui résultent de l'administration de la dose létale de MMT sont similaires. Les signes cliniques débutent par une faible excitation, de l'hyperactivité suivie d'une excitation généralisée du système nerveux central incluant des tremblements, des spasmes toniques, une respiration lente et faible, des convulsions occasionnelles, et se terminent par un coma. Une faible rougeur des yeux est remarquée mais elle disparaît en 2 à 3 jours sans aucun signe d'irritation. Ceux qui survivent ne souffrent d'aucune séquelle neurologique (Ethyl Corporation, 1976; Health and Welfare Canada, 1978; Hinderer, 1979). Quant aux symptômes, ils se développent avec une sévérité proportionnelle à la dose administrée. Ils peuvent inclure un aspect plus rugueux du pelage, des tremblements, une asthénie progressive, une gêne respiratoire, des décharges nasales sérosanguines, et un coma terminal. Les survivants reprennent un aspect normal quelques jours après l'exposition (Hysell *et al.*, 1974; O.M.S., 1981).

Une injection intrapéritonéale de presque la moitié d'une dose létale de MMT à des souris et des rats a provoqué des nécroses sélectives des cellules épithéliales non-ciliées des bronches (les cellules Clara) avec des dommages du parenchyme pulmonaire (Haschek *et al.*, 1982). Une évaluation histopathologique montre la décoloration, la congestion et la dilatation du foie, des reins et de la rate (Hinderer, 1979). Le MMT est un toxique potentiel pour les poumons, mais il a des effets modestes au niveau du foie et des reins. Cela est appuyé par le fait que le MMT est incapable de modifier la GPT plasmatique, les triglycérides hépatiques et l'activité de la glucose-6-phosphatase pour une même dose capable de produire les hémorragies et les œdèmes pulmonaires (Hanzlik *et al.*, 1980b).

Les autopsies des rats pratiquées à la suite de l'administration d'une simple dose orale (de 15 à 150 mg/kg) ont indiqué la présence d'une relation dose-changement histologique au niveau des poumons, du foie et des reins, une augmentation réversible des concentrations tissulaires du manganèse et une DL₅₀ de 58 mg/kg (Hysell *et al.*, 1974). Selon Hysell *et al.*, les changements peuvent être classés en trois degrés selon le moment du décès :

- pour les individus qui meurent durant la première journée de l'exposition : un aspect atonique de l'estomac est constaté, les poumons sont dilatés et congestionnés et la trachée pleine de fluide mousseux sérosanguin, un œdème périvasculaire et alvéolaire ainsi qu'une hémorragie alvéolaire sont aussi observés ;
- pour les individus qui meurent durant les trois premières journées de l'exposition : l'intestin grêle avec une mince paroi est ballonné de produits clairs et une sévère pneumonie fibrinopurulente est constatée avec une infiltration de macrophages ;
- pour les individus qui survivent au quatorzième jour : les poumons montrent des aires de consolidation, un septum alvéolaire épaissi et des aires alvéolaires où l'activité des macrophages est remarquable.

Selon Hysell *et al.*, les lésions hépatiques progressent d'une congestion centrolobulaire aiguë dans les 24 heures, à une nécrose parenchymateuse avec une infiltration des leucocytes dans les 72 heures puis à des altérations vacuolaires cytoplasmiques très étendues dans les 14 jours. Tous ces changements sont accompagnés d'une dégénérescence des tubules rénaux.

Enfin, plusieurs études ont été réalisées dans le but de clarifier les conséquences biochimiques suite à l'exposition au MMT et au dépôt du manganèse inorganique dans les tissus. In vitro, des études ont révélé que le MMT inhibe l'oxydation des substrats liés au NAD⁺ et le transfert d'énergie associé dans les mitochondries isolées (Autissier *et al.*, 1977a,b).

Gianutsos et Murray ont examiné les changements qui se produisent au niveau des neurotransmetteurs suite à des injections sous-cutanées de MMT chez des souris. Les souris sont injectées 11 fois en trois semaines à une dose de MMT qui varie entre 5 et 20 mg/kg exprimée en Mn. Les autopsies ont montré une réduction de la concentration de la dopamine dans le striatum et les tubercules olfactifs et une augmentation du GABA au niveau du striatum et du mésencéphale. In vitro, le manganèse apparaît incapable d'inhiber la tyrosine hydroxylase (Deskin *et al.*, 1980) et donc la dégénérescence des neurones dopaminérgiques par le manganèse est probablement responsable de la réduction de la dopamine qui à son tour modifie les concentrations de GABA (effet secondaire indirect). Cependant l'activité de l'acétyl-cholinestérase demeure inchangée (Gianutsos et Murray, 1982).

Fishman *et al.*, ont remarqué que le MMT n'a pas d'effet sur l'accumulation de l'acide 4-aminobutyric (GABA) dans le cerveau des souris même après l'injection de l'acide aminooxyacétique (AOAA) qui est l'inhibiteur spécifique de la GABA transaminase. Ils ont suggéré alors que le MMT n'affecte pas les mécanismes de la synthèse et la libération du GABA, mais seulement son catabolisme. Le MMT était capable d'inhiber la liaison du ligand [³H]TBOB (t[³H] Butylbicycloortho benzoate) avec le récepteur GABA-A qui se trouve sur les canaux chlorures des membranes cervicales avec une CI_{50} de 22,8 μ M (Fishman *et al.*, 1987).

Une étude plus récente a été réalisée dans le but d'examiner les effets associés à une administration chronique d'une forte dose orale de MMT chez des souris. Après un an d'ingestion quotidienne de 0,5 g MMT/kg, on pouvait remarquer une concentration significative du Mn dans le cervelet ainsi que des changements significatifs au niveau des amines dans différentes régions cervicales. Il y avait une diminution de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique et une augmentation de la normétanéphrine dans le cervelet, une baisse de la

norépinéphrine et une augmentation de l'acide homovanillique dans le corps strié, une augmentation de la 3-méthoxytyramine dans le mésencéphale, une diminution de la sérotonine et une augmentation de la normétanéphrine dans la moëlle épinière. On pouvait remarquer la présence d'une corrélation entre le niveau du normétanéphrine et du Mn dans le cervelet. Les augmentations des amines en général peuvent être expliquées par la réaction de méthylation des catécholamines par le Mn (Komura et Sakamoto, 1994).

1.8 L'analogue du MMT

Le cyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (CMT) est l'analogue du MMT. Son poids moléculaire est de 204,1 et le TLV-TWA est de 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ exprimé en Mn. C'est aussi un additif dans l'essence, utilisé comme un agent antidétonant qui est toxique même à de faibles concentrations. Il irrite faiblement la peau lorsqu'on l'applique directement mais ne la pénètre pas lorsqu'il est dissout dans l'huile ou dans l'essence (ACGIH, 1986).

1.8.1 La toxicité du CMT

Pour étudier la toxicité du CMT, des expériences ont été réalisées sur des rats, des lapins et des cochons. L'inhalation de CMT à une concentration de 120 mg/m^3 pendant deux heures a tué 80% des rats, alors qu'une concentration de 20-40 mg/m^3 n'a donné aucun effet. Une exposition prolongée de 11 mois à une faible concentration soit 1 mg/m^3 , 4 heures/jour a entraîné chez des lapins, des cobayes et des rats des effets de type muscarinique au niveau du système nerveux central, des dommages rénaux marqués par une baisse de la diurèse et de l'albuminurie, et une résistance diminuée aux infections (ACGIH, 1986; O.M.S., 1981).

Des études ont été réalisées sur des souris pour étudier les effets de l'application cutanée de CMT. Une solution de CMT dans l'essence de

1g/100 ml appliquée deux heures/jour pendant 5 jours a produit les mêmes effets que ceux de l'essence pure. Par contre le CMT dans du tétrahydrofurane était plus toxique que le tétrahydrofurane pur puisqu'il a tué les animaux dont la queue était immergée dans la solution en l'espace d'une heure. Aucun décès n'avait été remarqué pour le tétrahydrofurane pur (ACGIH, 1986).

Selon des études effectuées sur des rats, les DL_{50} sont de 22 et 14 mg/kg respectivement pour les voies orale et intrapéritonéale (ACGIH, 1986). On peut remarquer que ces valeurs sont presque la moitié de celles du MMT, témoignant aussi d'une toxicité plus forte du CMT.

1.8.2 Les effets cliniques et histologiques de CMT

Même avec une faible concentration de 1 g/L, le CMT peut affecter le système nerveux produisant des convulsions et des changements histologiques dans le système respiratoire. Suite à des injections intrapéritonéales chez des souris et des rats, Haschek *et al* (1982) ont observé des nécroses des cellules épithéliales non ciliées des bronches et des dommages au parenchyme pulmonaire.

1.9 Action synergique du MMT

Le MMT agit de façon synergique avec d'autres substances. Cela a été prouvé par Hakkinen *et al.* en 1983 lorsqu'ils ont étudié l'effet de l'oxygène sur les poumons de souris et de rats traités préalablement par injection intrapéritonéale de MMT dissous dans l'huile de maïs à des doses de 120 et 5 mg/kg respectivement. Immédiatement après le traitement, la moitié de ces animaux avait été placée pour 6 jours dans des chambres de plastique de 450 litres, et ventilées continuellement avec 80% d'oxygène à un débit de 15 L/min. La température et l'humidité avaient été maintenues à 24-25 °C et 55-

65% respectivement. Les animaux avaient été ensuite sortis de leurs chambres et maintenus dans des chambres normales jusqu'au moment de leur sacrifice, 3 semaines après l'injection de MMT, pour des examens histologiques.

Aucun effet n'a été observé dans les poumons des rats et des souris, après l'exposition à l'oxygène seul, même à des concentrations élevées (80%). Les souris, exposées à l'oxygène à haute concentration (80%) immédiatement après l'apparition des lésions pulmonaires induites par un traitement au MMT, développent une fibrose beaucoup plus significative que lorsqu'elles sont traitées par le MMT seul. Par contre, l'oxygène à cette même concentration n'est pas capable d'aggraver les lésions pulmonaires déjà présentes chez des rats traités avec le MMT seul. Ces différences de réponses entre les souris et les rats appellent certainement à plus d'investigations.

1.10 Les principaux métabolites de MMT

Les deux principaux métabolites de MMT sont: le hydroxyméthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (CMT-CH₂OH), et le carboxycyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (CMT-COOH). Ces deux métabolites ne causent pas de toxicité aiguë significative chez des rats même à la dose de 250 mg/kg administrée par injection intrapéritonéale (Cox *et al.*, 1987). La différence de toxicité du MMT et de ses deux métabolites principaux est expliquée par les changements de la solubilité des métabolites qui permet d'une part une diminution de la distribution au niveau du SNC et d'autre part une plus rapide excrétion.

En 1980, Hanzlik *et al.* ont pu isoler et identifier ces deux métabolites dans l'urine des rats suite à une simple dose orale de MMT. In vivo, la biotransformation du MMT produisant ces deux métabolites est considérée

comme une voie de désintoxification importante. In vitro, cette biotransformation est réalisée par l'enzyme cytochrome P-450 mono-oxygénase dépendant du NADPH. Cette enzyme est induite par le phénobarbital et inhibée par le CO et le N-decylimidazole. Pour cela, un pré-traitement par le phénobarbital peut protéger l'espèce des effets toxiques et létaux lors de l'administration du MMT en augmentant du double la vitesse de l'excrétion biliaire de ses métabolites (Hanzlik *et al.*, 1980a).

1.11 Résumé

Le MMT utilisé comme agent antidétonant dans l'essence est un produit toxique affectant principalement les poumons, les reins, le foie et le système nerveux central. Il est considéré plus dangereux lors d'une exposition professionnelle que pour la population en générale. Bien que la valeur limite d'exposition TLV-TWA déterminée par l'ACGIH est de 200 µg/m³, il est primordial de faire des études toxicologiques approfondies afin d'assurer un environnement sain aux groupes de travailleurs qui sont plus à risque étant en contact direct avec ce produit comme par exemple les pompistes qui font le plein d'essence dans les stations d'essence-service. Malheureusement, toutes les études qui ont été réalisées pour étudier les effets d'une exposition par voie respiratoire au MMT ont été réalisées chez des animaux de laboratoire et ne visaient qu'à connaître la concentration létale (tableau II). Seule l'étude de Pfitzer *et al.* en 1978 visait à étudier les effets de l'exposition sub-chronique au MMT chez des souris. Cette exposition a entraîné une augmentation de la phosphatase alcaline dans le sérum.

Tableau II : Études sur la toxicité de MMT par inhalation

Animal	Concentration de MMT	Durée d'exposition	Effets	Référence
Rat	76 mg/m ³	4 h	LC50	Hinderer, 1979
Rat	247 mg/m ³	1 h	LC50	Hinderer, 1979
Rat	220-247 mg/m ³	1 h	LC50	Ethyl Corporation, 1972
Souris	0,075-7,65 mg/m ³	90 j	Augmentation de la phosphatase alcaline dans le sérum	Pfizer et al., 1978

1.12 Objectif de recherche

Notre objectif de recherche vise donc à :

- Évaluer l'exposition professionnelle des pompistes au méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (MMT) utilisé dans l'essence à partir d'un échantillonnage personnalisé.
- Valider la méthode d'échantillonnage utilisée ainsi que l'analyse chimique.

La présente recherche permettra donc de vérifier l'hypothèse selon laquelle l'exposition de certains groupes de la population au MMT est plus élevée que celle établie à partir de mesures ambiantes et que cette exposition sera toutefois faible.

Ainsi pour satisfaire aux exigences d'un échantillonnage personnalisé, nous avons développé avec la collaboration d'environnement Canada (Dr. Y. K. Chau) une nouvelle méthode à cet effet. Le système d'échantillonnage est constitué d'un tube de verre avec des joints rodés à chaque extrémité, permettant ainsi une connexion en série. Le tube contient un adsorbant, le Tenax TA (60-80 mailles, 5 cm) avec de la laine de verre aux extrémités. Lors de l'échantillonnage, deux tubes sont toujours utilisés pour prévenir toute perte. Ces tubes sont connectés à une pompe portable. L'air sera aspiré à l'aide de cette pompe avec un débit contrôlé et maintenu à 200 ml/min par un calibrateur au début et à la fin de chaque échantillonnage. Le MMT adsorbé par le Tenax TA sera analysé par GC-AED.

CHAPITRE II

**ÉVALUATION DE L'EXPOSITION DES POMPISTES AU
MÉTHYLCYCLOPENTADIÉNYLE MANGANÈSE
TRICARBONYLE (MMT) UTILISÉ DANS L'ESSENCE.**

**EXPOSURE OF GAS ATTENDANTS TO
METHYLCYCLOPENTADIENYL MANGANESE TRICARBONYL
(MMT) USED IN GASOLINE.**

**Mouna Keiloun¹, Fan Yang², Yiu K. Chau², France Gagnon¹, Michèle Rivard³
and Joseph Zayed¹**

¹Département de santé environnementale et santé au travail and ³Département de médecine sociale et préventive, Faculté de médecine, Université de Montréal, C. P. 6128, Succ. Centre-ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7. ²National Water Research Institute, Environment Canada, Canada Center for inland waters, Burlington, Ontario, Canada L7R 4A6

Key words : MMT, exposure, gas station attendants.

Will be submitted soon to
Environmental Toxicology and Chemistry

Abstract

Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) is an organic derivative of manganese (Mn) used in Canada as an antiknock agent and as octane enhancer. In a recent study, we assessed the atmospheric concentrations of MMT at selected outdoor sites in Montreal. Results ranged from 0.18 ng/m³ to 25 ng/m³ (expressed as Mn) and do not reflect personal exposure levels. The highest values were obtained at a gas station (mean of 12 ng/m³). By extension, personal exposure of gas attendants constituted a promising research avenue. Moreover, the sampling method used in this first research entails an uncertainty related to the possibility that the samples could include ultra fine particles, which were able to pass through the filters used, and the chemical analysis used (neutron activation) did not permit to discriminate between Mn and MMT. This study aims to assess personal exposure to MMT of gas attendants and to validate the sampling method as well as the chemical analysis. The percentage of MMT recovery was 91.6%. The exposure of 13 service station attendants was measured on 1 to 6 occasions each (n=32). They were working in two busy gas stations located in Montreal. The workers were asked to wear a portable pump for two hours. The air was pumped through two tubes in series filled with the adsorbent Tenax TA, with glass wool plugs at both ends. The tubes were wrapped in aluminium foil and samples were analyzed by GC-AED. Results vary between 0.3 and 10.8 ng/m³, with a mean of 3.8 ng/m³, which is relatively the same of the level of the environmental contamination established in the first study at the gas station. This reinforces the finding that MMT is obtained chiefly through evaporation.

Introduction

Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT: $C_9H_7MnO_3$) is an organic derivative of manganese [1]. It is used in Canada since 1976 [2], as an antiknock agent and replaced alkyllead compounds to improve octane ratings [3]. MMT is considered to have a high systemic toxicity. Experimental data have shown that exposure to MMT produces severe injury to the kidney, liver, lung and central nervous system [4,5].

About 40 mg of MMT, containing 10 mg of Mn could be added to each liter of gasoline in Canada [6]. However, a recent study shows that, in fact, MMT and Mn concentrations found in the MMT-added gasoline are 26.5 mg/l and 6.5 mg/l respectively [7]. Mn is emitted from the tailpipe primarily as a mixture of Mn phosphate and Mn sulfate with a particle size ranging between 0.2 and 10 μ m. Analytical transmission electron microscopy characterization shows that the isolated particles consist of manganese-oxygen-phosphorus-sulfur (in order of a descending peak intensity), indicating that Mn phosphate is the main constituent of the particles [8]. A small fraction of MMT, maximum 0.5%, not emitted in the atmosphere appears to accumulate in the engine [9].

MMT is a yellow volatile liquid [5]. It has a low vapour pressure of 4.7×10^{-2} mm Hg at 20° C and a water solubility of 70 mg/l at 25° C [10]. It decomposes rapidly photochemically [11] and is thermally stable. In sunlight, its half-life is extremely short, approximately 15 seconds with photolysis leading to a mixture of manganese oxides [12]. However, it is fairly stable in the absence of light with half-life ranging from 0.2 to 1.5 years in aquifer material at 25° C [13]. Its environmental fate has not been fully studied, to assess environmental contamination, chronic human exposure, as well as the general population exposure to MMT.

In recent investigations of MMT occurrence in rain water and storm runoff collected along highways, MMT was found in most of the samples [14]. It is interesting to observe that a readily photodegraded compound can still exist in water samples.

Zayed et al. [15] assessed the atmospheric concentrations of MMT at selected outdoor sites in Montreal (a gas station, an underground car park, downtown Montreal, near an expressway and near a refinery). Results ranged from 0.18 ng/m³ to 25 ng/m³ (expressed as Mn) and reflected ambient air concentrations and not personal exposure levels. These results are interesting since they include the residual MMT emitted through the exhaust system and the unburned MMT from evaporative emissions and it could be concluded that MMT is obtained chiefly through evaporation. By extension, personal exposure of gas attendants to MMT constitutes a promising research avenue.

This study aims to assess personal exposure to MMT of service station attendants and to validate the sampling method as well as the chemical analysis.

Methods

Pre-test: Recovery of MMT

In a previous study [16], the recovery of MMT by various adsorbents was evaluated. Among them, Tenax, Florisil and C18 recovered the MMT satisfactorily. For technical reasons, Tenax was then chosen for our study.

In the present study, the recovery of MMT by Tenax TA was evaluated by injecting 250 μ l of 100 ppt MMT/MeOH into the glass wool plug at the sample entry point of the first tube and running the pump at the rate of 200 ml/min for 2 hours, 5 times. The Tenax TA was packed (5 cm absorbent bed) in the two tubes with wool plugs at both ends. When the running time was finished, each tube was eluted with 8 ml of hexane. The recovery assessment was performed exactly in the manner as for real sample analysis. After reduction of the elute to 1 ml under nitrogen flow, 1 μ l of each fraction was injected to the GC-AED system for analysis. The recovery was assessed by comparing the GC-AED signal to that of a standard prepared by adding the same amount of MMT to 750 μ l of methanol.

Air sampling and chemical analysis

In April and May 1999, exposure of 13 service station attendants was measured on 1 to 6 occasions each (n=32). They were working in two busy gas stations located in Montreal. The workers were asked to wear a portable pump model Gil-Air Constant Flow Air (Gilian Instrument Corp. W. Caldwell NJ) for two hours with a constant flow rate of 200 ml/min, calibrated before and after each sampling with a Gilibrator (Gilian Instrument Corp. W. Caldwell NJ). The air was pumped through two tubes in series (6 inc. long x 0.5 inc. dia) to prevent possible leakage, as presented in Thibault et al. [17]. The tubes were filled with the adsorbent, Tenax TA (60-80 mesh, 5 cm) provided by Supelco Canada (1300 Aimco Blvd. Mississauga, Ontario) with glass wool plugs at both ends. The tubes were wrapped in aluminium foil to prevent light

exposure and stored in a freezer until their analysis by GC-AED. It was found that the trapped MMT did not leak out nor was decomposed even if they were stored in freezer for two weeks [16].

The GC-AED system consists of a gas chromatograph equipped with a split/splitless injection port, a HP microwave plasma atomic emission detector and HP automatic sampler. The operation parameters of the GC-AED system are given in Table 1.

Atmospheric MMT

Atmospheric concentrations of MMT was established by applying the following equation:

$$MMT_{AC} = \frac{[MMT] \times WR \times CF}{FR \times T \times cf}$$

Where:

MMT_{AC} : Atmospheric concentration of MMT (ng/m³)

[MMT] : Amount of MMT as Mn in 1 ml of hexane (pg/ml hexane)

WR : Weight Ratio MMT/Mn = 4.09

CF : Converting factor of ml to m³ = 1 000 000

FR : Flow rate (ml/min)

T : Sampling duration (min)

cf : Converting factor of pg to ng : 1 000

Results

Table 2 presents the mean recovery percentage of MMT by Tenax TA. It was 91.6% and no MMT was detected in the backup tube (tube B). The atmospheric concentrations of MMT varied between 0.3 and 10.8 ng/m³ (Table 3) with a mean of 3.8 ng/m³ (SD = 2.8 ng/m³) and a median of 2.6 ng/m³. For two samples, MMT was detected in tube B at very low levels. As presented in Figure 1, the distribution of atmospheric concentration is skewed to the right. About 56% (18/32) of the values were below 3 ng/m³ and 16 % (5/32) were above 8 ng/m³.

Discussion

Very few studies have determined the atmospheric concentrations of MMT. In 1979, a study conducted in Toronto revealed MMT concentrations in an underground parking garage ranging from 0.1 to 0.3 ng/m³ (detection limit 0.05 ng/m³ MMT) but MMT was not detected in ambient air on the streets of the city [18]. In 1998, another study conducted in five selected outdoor sites in Montreal (gas station, an underground car park, downtown Montreal, near an expressway and near an oil refinery) revealed that the atmospheric concentrations of MMT ranged from 0.18 to 25 ng/m³ (expressed as Mn) [15]. The highest values were obtained at a gas station (mean of 12 ng/m³). In this study, we used a 3-piece cassette with PTFE filter, pore size of 0.45 µm and a glass impinger inserted in ice and containing 15 ml of isopropanol. This air sampling method entails an uncertainty related to the possibility that the samples could include ultra fine particles, which were able to pass through the filters used. The chemical analysis used (neutron activation; INAA) did not permit also to discriminate between Mn and MMT.

In order to gain stronger scientific facts on the environmental and exposure levels, another study was conducted using two different air sampling methods (with an impinger and adsorbent tubes) and INAA and GC-AED for chemical analysis [17]. This study revealed that the sampling method with the adsorbent tubes and the GC-AED chemical analysis were the best.

Previously, we proceeded to a pre-test to evaluate the percentage of MMT recovery by the Tenax-TA with our personal method developed by one of the co-authors (Y. K. Chau). The results revealed a very high percentage around 91.6% (82.3% - 97.7%).

Our results are similar to those obtained by Zayed et al described previously. They ranged from 0.3 to 10.8 ng/m³ with a mean of 3.8 ng/m³. This reinforces the

likelihood that MMT is obtained chiefly through evaporation. The slight difference supports the possibility that the samples could include ultra fine particles.

Even if exposure of the general population to unburned MMT appears to be low, we have to consider that some potential risk exists for exposure through abuse (gasoline-sniffing) or through use of gasoline as a solvent and cleaner [19]. Very few studies have been done in order to assess toxicity of inhaled MMT. Obviously, focus was put on very high levels of MMT exposure in order to establish the LC_{50} . The lack of strong toxicological studies on the toxicity of inhaled MMT is perhaps due to the fact that exposure via evaporative emissions had been estimated to be low, due to the relative low volatility of MMT [18] and the small quantity of MMT used in gasoline (26.5 mg/l).

Since there is a possibility of professional exposure to MMT during the production process and during the blending and transferring of MMT, scientific assessment and toxicological studies should be done with regard to chronic toxicity. Research is specially needed to determine health effects of long term, low dose exposures to MMT. It would be interesting to make another studies for examining the correlation between exposure and the pumping duration, having in consideration all the variations which could affect the results such as the inter-station and the inter-personal variations, the sample's size even if the TLV-TWA established by the ACGIH in 1993 [20] was as low as $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Acknowledgements

The authors are grateful to the ministère des Ressources Naturelles du Québec, who supported this study financially. We also wish to thank Georges Adib for his scientific contribution and all the volunteers who participated in the study.

References

1. **Cooper, W.C.** 1984. The health implications of increased manganese in the environment resulting from the combustion of fuel additives: a review of the literature. *J. Toxicol. Environ. Health* **14**:23-46
2. **Environment Canada.** 1987. National inventory of sources and emissions of manganese (1984) by A.P. Jaques. (Report EPS 5 / MM / 1) Environmental Analysis Branch, Environmental Protection, Conservation and Protection, Ministry of Supply and Services Canada, Ottawa, Ontario, Canada pp. 26-37
3. **Hinderer, R.K.** 1979. Toxicity studies of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT). *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **40**:164-167
4. **Hanzlik, R.P., R. Stitt and G.J. Traiger.** 1980. Toxic effects of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in rats: role of metabolism. *Toxicology and Applied Pharmacology* **56**:353-360
5. **McGinley, P.A., J.B. Morris, R.J. Clay and G. Gianutsos.** 1987. Deposition and toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in rat. *Toxicol. Lett.* **36**:137-145
6. **Canadian Petroleum Products Institute (CPPI).** 1993. Composition of Canadian Summer and Winter Gasolines (sulphur, manganese, T(90)). Ottawa, Canada: CPPI
7. **Zayed, J., J. Pitre, M. Rivard and S. Loranger.** 1999a. Evaluation of pollutant emissions related to the use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. *Water Air Soil Pollut.* **109**:137-145

8. **Zayed, J., H. Bande and G. L'Espérance.** 1999b. Characterization of manganese containing particles collected from exhaust emissions of automobiles running with MMT additive. *Env. Sc. Technol.* **33**:3341-3346
9. **Ardeleanu, A., S. Loranger, G. Kennedy, L. Gareau and J. Zayed.** (in press) Emission rates and physicochemical characteristics of Mn particles emitted by vehicles using MMT as octane improver. *Water Air Soil Pollut.*
10. **Health and Welfare Canada.** 1978. Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT): An assessment of the human health implication of its use as a gasoline additive. Environmental Health Directorate, Health Protection Branch, Publication no. 78-EHD-21. Ottawa, Canada.
11. **Hysell, D.K., W.Jr. Moore, J.F. Stara, R. Miiler and K.I. Campbell.** 1974. Oral toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in rats. *Environ. Res.* **7**:158-168
12. **Ter Haar, G.L., M.E. Griffing, M. Brandt, D.G. Oberding and M. Kapron.** 1975. Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl as an antiknock: composition and fate of manganese exhaust products. *J. Air Pollut. Control Assoc.* **25**:858-860
13. **Garrison, A.W., M.G. Cipollone, N.L. Wolfe and R.R. Swank Jr.** 1995. Environmental fate of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **14(11)**:1859-1864
14. **Yang, F. and Y.K. Chau.** 1999. Determination of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in aqueous samples by SPME-GC-AED. *Analyst* **124**:71-73

15. **Zayed, J., C. Thibault, L. Gareau and G. Kennedy.** 1999c. Airborne manganese particulates and methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) at selected outdoor sites in Montreal. *Neurotoxicol.* **20(2-3):151-158**
16. **Chau, Y.K., F. Yang and M. Brown.** 1999. National Water Research Institute Contribution. No. 99-074. National Water Research Institute, Environment Canada, Canada Centre for Inland Waters, Burlington, Ontario, Canada
17. **Thibault, C., Y.K. Chau, F. Yang, G. Kennedy, L. Gareau and J. Zayed.** (submitted) Comparison of atmospheric methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl and manganese in different urban areas.
18. **Coe, M., R. Cruz and J.C. Van Loom.** 1980. Determination of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl by gas chromatography-atomic absorption spectrometry at ng/m³ levels in air samples. *Anal. Chem. Acta* **120:171-176**
19. **Wood, G. and M. Egyed.** 1994. Risk assessment for the combustion products of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. Health Canada, Ottawa, Canada
20. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists.** 1993. Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices for 1993-1994. ACGIH, Cincinnati, OH, p.26

Table 1. Operation parameters of the GC-AED system**GC parameters**

Injection port	Splitless
Injection port temperature	250°C
Injection volume	1 µL
Column	SPB-1.30 m x 0.53 mm
Column head pressure	Helium, 100 kpa
Temperature program	80°C for 0.5 min, then 30°C/min to 190°C

AED parameters

Transfer line	SPB-1
Transfer line temperature	280°C
Cavity temperature	280°C
Solvent vent time	2 min
Spectrometer purge gas	N ₂ at 2 L/min
Helium make-up gas	280 mL/min
Manganese wavelength	259 nm

Table 2. Recovery of MMT by Tenax TA

Mean flow rate (mL/min)	Sampling duration (min)	Concentration of MMT in			Recovery %
		Tube A (pg Mn/mL hexane)	/	Tube B (pg Mn/mL hexane)	
204.7	133	108.0	/	ND	97.3
198.7	132	91.4	/	ND	82.3
195.7	129	107.7	/	ND	97.0
200.6	137	92.9	/	ND	83.7
192.9	127	108.5	/	ND	97.7
Mean		101.7	/	ND	91.6
Standard		111.0	/	ND	

ND : non detectable (< 1 pg Mn/mL hexane)

Table 3. Atmospheric MMT concentrations

Mean flow rate (mL/min)	Sampling duration (min)	Temp. (°C)	Concentration of MMT in Tube A / Tube B (pg Mn/mL hexane)		Atmospheric concentration of MMT (ng/m³)
199.4	120	12	24	/ ND	4.1
201.2	121	12	24	/ ND	4.0
198.3	122	8	7	/ ND	1.2
197.1	121	7	63	/ ND	10.8
198.5	121	16	32	/ 2	5.8
198.6	121	16	33	/ 3	6.1
198.6	123	9	16	/ ND	2.7
195.7	121	9	9	/ ND	1.6
194.4	128	10	14	/ ND	2.3
198.9	124	10	15	/ ND	2.5
196.8	120	8	49	/ ND	8.5
192.7	121	23	7	/ ND	1.2
196.8	119	16	14	/ ND	2.4
196.0	120	16	17	/ ND	3.0
197.8	122	9	25	/ ND	4.2
197.4	123	9	20	/ ND	3.4
197.4	121	20	12	/ ND	2.0
199.7	123	20	51	/ ND	8.8
199.7	121	18	10	/ ND	1.7
195.6	119	18	53	/ ND	9.3
197.1	116	13	11	/ ND	2.0
195.2	118	13	13	/ ND	2.3
197.0	121	25	2	/ ND	0.3
197.6	120	29	2	/ ND	0.3
194.2	121	16	38	/ ND	6.6
194.7	120	16	49	/ ND	8.6
193.9	120	14	15	/ ND	2.6
194.4	121	16	14	/ ND	2.4
196.7	124	12	12	/ ND	2.0
194.6	120	13	10	/ ND	1.8
204.0	119	7	13	/ ND	2.2
193.7	122	12	21	/ ND	3.6

ND : non detectable (< 1 pg Mn/mL hexane)

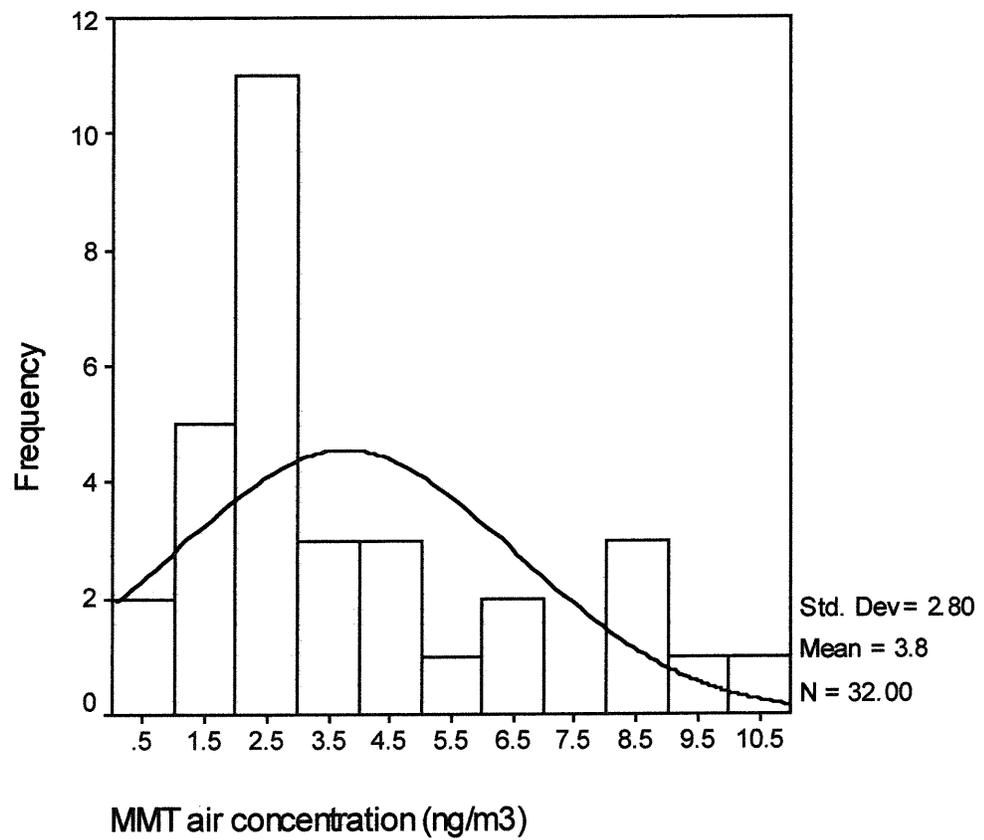


Figure 1. Distribution of MMT atmospheric concentrations

CHAPITRE III
DISCUSSION

Le MMT est un produit toxique affectant surtout les poumons, les reins, le foie et le système nerveux central. Des études expérimentales ont été réalisées sur des animaux de laboratoire dans le but de déterminer surtout la dose létale en exposant ces animaux à des doses très élevées de MMT.

La compagnie Ethyl Corporation a annoncé, en 1972, la valeur de CL_{50} du MMT chez les rats pour une exposition d'une heure (de 220 à 247 mg/m^3). Une étude réalisée par Hinderer en 1979, a démontré que les CL_{50} du MMT pour les rats sont 247 et 76 mg/m^3 pour des expositions de 1 et 4 heures respectivement. Seule l'étude réalisée par Pfitzer *et al.* en 1978 visait à étudier les effets de l'exposition sub-chronique au MMT. On peut y constater que l'exposition des souris au MMT à des concentrations de 0,075-7,65 mg/m^3 pendant 90 jours peut augmenter la phosphatase alcaline dans le sérum.

En 1979, Coe *et al.* ont mesuré la concentration atmosphérique de MMT à Toronto. Les valeurs obtenues variaient entre 0,1 et 0,3 ng/m^3 dans les stationnements souterrains (la limite de détection est de 0,05 ng/m^3) alors que le MMT n'avait pas été détecté dans les rues de la ville. Récemment, Zayed *et al.* ont mesuré la concentration atmosphérique de MMT dans cinq sites de Montréal (Zayed *et al.* 1999c). Ils ont utilisé des pompes portables Gil-Air qui étaient fixées à une hauteur d'un mètre du niveau du sol, durant trois jours. Les échantillons étaient ensuite analysés par activation neutronique (INAA). Les concentrations atmosphériques de MMT variaient entre 0,18 et 25 $ng Mn/m^3$, et la moyenne la plus élevée se trouvait dans les stations d'essence ayant une valeur de 12 $ng Mn/m^3$.

Toutefois, ces valeurs peuvent être mises en doute à cause d'une part de l'analyse chimique (INAA), qui ne permet pas de distinguer la source du Mn (MMT ou autre), et d'autre part de la possibilité que des particules ultrafines puissent passer à travers les filtres qui ont été utilisés (Thibault *et al.* soumis).

Bien que les concentrations atmosphériques environnementales soient relativement basses par rapport à la valeur de TLV-TWA de 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, déterminée par l'ACGIH en 1998 pour le milieu professionnel, il était primordial d'effectuer des recherches pour évaluer l'exposition de certains groupes à risque, comme par exemple les pompistes, qui sont potentiellement exposés au MMT.

Au début de la recherche, des expériences préliminaires ont été réalisées pour sélectionner le meilleur adsorbant et choisir le design expérimental le plus approprié pour l'échantillonnage du MMT sur une base individuelle. Deux adsorbants ont été testés, le Tenax TA et XAD-2. Ce dernier a été éliminé pour des raisons techniques. Il était difficile de séparer les mailles différentes de XAD-2 pré-assemblées dans le même tube pour le lavage et l'extraction du MMT. Ainsi, nous avons retenu le Tenax TA. Quant au design, il était constitué de deux tubes en forme de "L" avec des joints rodés qui permettaient une connexion en série. Ces tubes étaient remplis de l'adsorbant avec de la laine de verre aux extrémités. Lorsque ces tubes sont connectés, ils forment un tube en forme "U". Ce design avait été choisi pour minimiser la gêne des pompistes. Nous avons toutefois changé la forme tubulaire et avons utilisé des tubes droits. Ces tubes se brisaient moins facilement que les premiers et favorisaient un meilleur lavage de l'adsorbant, lors de l'extraction du MMT. Des tests ont été réalisés dans le but de déterminer le pourcentage de recouvrement du MMT par le Tenax TA par notre méthode d'échantillonnage. Le pourcentage s'est avéré très élevé, atteignant en moyenne 91,6% (étendue : 82,3%-97,7%).

Les résultats de cette étude ont montré que les concentrations atmosphériques de MMT auxquelles les pompistes sont exposés varient entre 0,3 et 10,8 $\text{ng Mn}/\text{m}^3$ avec une moyenne de 3,8 ng/m^3 . Ces valeurs sont comparables aux résultats de l'étude précédente (Zayed *et al.* 1999c),

ce qui appuie le fait que le MMT est obtenu principalement par évaporation. La petite différence entre les deux études peut être expliquée, entre autres, par la possibilité que certaines particules ultrafines de Mn se trouvaient dans les échantillons récoltés (Thibault *et al.*, soumis). En comparant nos valeurs à celles de Coe *et al.* mentionnées ci-dessus, on peut constater qu'elles sont de 3 à 36 fois plus haute.

Bien que nos valeurs obtenues soient faibles par rapport à la valeur de la TLV-TWA de 200 ug/m³ établie par l'ACGIH en 1998 c'est à dire 20 000 fois moins élevées, on ne peut décider si ces valeurs, puissent être considérées comme totalement sécuritaires. La validité de ces valeurs peut être limitée par la représentativité des pompistes. Il est en effet possible que d'autres stations puissent présenter un potentiel d'exposition plus important (notamment par un niveau de vente d'essence plus élevé). De plus, les résultats ont été obtenus à partir d'un petit nombre d'échantillons, entraînant ainsi une grande variabilité. Il n'a pas été possible d'obtenir plus d'échantillons pour cette étude à cause de limitations logistiques.

Il est donc primordial d'entreprendre d'autres études pour compléter celle-ci. Il serait alors souhaitable de prendre en compte non seulement l'exposition ponctuelle, mais aussi la durée de cette exposition, afin d'établir et d'examiner éventuellement la relation entre la durée réelle d'exposition et la concentration obtenue, et pour examiner la linéarité de la courbe dose-réponse si des effets devraient se manifester.

CHAPITRE IV
RÉFÉRENCES

Abbott PJ (1987) Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in petrol : The toxicological issues. *The Science of the Total Environment* 67:247-255

ACGIH (1986) Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices, fifth edition. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio

ACGIH (1998) TLVs and BEIs threshold limit values for chemical substances and physical agents. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio

Autissier N, Dumas P, Brosseau J, Loireau A (1977a) Action du manganèse méthylcyclopentadiényle tricarbonyle (MMT) sur les mitochondries. I. Effets du MMT, in vitro, sur la phosphorylation oxydative des mitochondries hépatiques des rats. *Toxicology* 7:115-122

Autissier N, Gantheron B, Dumas P, Brosseau J, Loireau A (1977b) Action du manganèse méthylcyclopentadiényle tricarbonyle (MMT) sur les mitochondries. II. Relation activité structure. *Toxicology* 8:125-133

Boyd MR, Burka LT, Wilson BJ, Sasame HA (1978) In vitro studies on the metabolic activation of the pulmonary toxin 4-ipomeanol, by rat lung and liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 207:677-686

Brault N, Loranger S, Courchesne F, Kennedy G, Zayed J (1994) Bioaccumulation of manganese by plants : influence of MMT as a gasoline additive. *Sci Total Environ* 153:77-84

- CGSB (1986) An assessment of the effect of MMT on light-duty vehicles exhaust emissions in the canadian environment. Canadian General Standards Board, Ottawa
- Chau YK, Yang F, Brown M (1999) Application of solid phase extraction and gas chromatography-microwave plasma atomic emission spectrometry in the determination of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in air. Report No 99-074 (1999), National Water Research Institute, Environment Canada, Canada Centre for Inland waters, Burlington, Ontario, Canada
- Coe M, Cruz R, Van Loom JC (1980) Determination of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl by gas chromatography-atomic absorption spectrometry at ng/m³ levels in air samples. *Anal Chim Acta* 120 :171-176
- Cooper WC (1984) The health implications of increased manganese in the environment resulting from the combustion of fuel additives: a review of the literature. *J Toxicol Environ Health* 14:23-46
- Cox D, Penney D, Gaddis R, Orr J, Hanzlik R, Traiger G (1985) Effect of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl on systemic and pulmonary hemodynamics. *Toxicol* 5:135
- Cox DN, Traiger GJ, Jacober SP, Hanzlik RP (1987) Comparison of the toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl with that of its two major metabolites. *Toxicology Letters* 39:1-5
- Craig PJ (1986) Organometallic compounds in the environment: principles and reactions. Longman, London, ch.10

- Deskin R, Bursian SJ, Edens FW (1980) An investigation into the effects of manganese and other divalent cations on tyrosine hydroxylase activity. *Neurotoxicology* 2:75-81
- Environment Canada (1987) National inventory of sources and emissions of manganese - 1984. EPS 5/MM/1. Conservation and Protection, Environmental Analysis Branch, Ottawa, Ontario
- Ethyl Corporation (1972) Effects of skin contact with fuels containing MMT. Med Dept, Ethyl Corp, New Orleans, La
- Ethyl Corporation (1974) Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT), an anti-knock agent for unleaded gasoline. (Status report, 2nd ed.), Femdale, MI, Ethyl Corporation Research Lab.
- Ethyl Corporation (1976) Toxicology of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT). Toxicology and Industrial Hygiene Department, Baton Rouge, Louisiana, U.S.A.
- Ethyl Corporation (1990) The case for an environmentally beneficial fuel additive. Ethyl Corporation Corporate Communications, Richmond, VA
- Fishman BE, McGinley PA, Gianutsos G (1987) Neurotoxic effects of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in the mouse: basis of MMT-induced seizure activity. *Toxicol* 45:193-201
- Gaind VS, Vohra K, Chai F (1992) Determination of tricarbonyl (3-methylcyclopentadienyl) manganese in gasoline and air by gas chromatography with electron-capture detection. *Analyst* 117:161-164

- Garrison AW, Cipollone MG, Wolfe NL, Swank RRJr (1995) Environmental fate of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl. *Environ Toxicol and Chem* 14(11):1859-1864
- Gianutsos G, Murray MT (1982) Alterations in brain dopamine and GABA following inorganic or organic manganese administration. *Neurotoxicology* 3(3):75-81
- Hakkinen PJ, Haschek WM (1982) Pulmonary toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl: nonciliated bronchiolar epithelial cell necrosis and alveolar damage in the mouse, rat and hamster. *Toxicol Appl Pharmacol* 65:11-22
- Hakkinen PJ, Morse CC, Martin FM, Dalbey WE, Haschek WM, Witschi HP (1983) Potentiating effects of oxygen in lungs damaged by methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl, cadmium chloride, oleic acid and antitumor drugs. *Toxicology and Applied Pharmacology* 67:55-69
- Hanzlik RP, Bhatia P, Stitt R, Traiger GJ (1980a) Biotransformation and excretion of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in the rat. *Drug Metab Dispos* 8:428-433
- Hanzlik RP, Stitt R, Traiger GJ (1980b) Toxic effects of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in rats: role of metabolism. *Toxicology and Applied Pharmacology* 56:353-360
- Haschek WM, Hakkinen PJ, Witschi HP, Hanzlik RP, Traiger GJ (1982) Nonciliated bronchiolar epithelial (clara) cell necrosis induced by organometallic carbonyl compounds. *Toxicology Letters* 14:85-92

- Health and Welfare Canada (1978) Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT): An assessment of the human health implications of its use as a gasoline additive. 78-EHD-21, Environmental Health Directorate, Health Protection Branch, Ottawa, Ontario
- Henderson RF (1984) Use of bronchoalveolar lavage to detect lung damage. Environ Health Perspect 56:115-129
- Hinderer RK (1979) Toxicity studies of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT). Am Ind Hyg Assoc J 40:164-167
- Huntingdon Research Center (1978) Protocol for a short term inhalation toxicity study of methylcyclopentadienyl manganese. Final report. Huntingdon Research Center, NY
- Hunton and Williams (1994) Rebuttal comments of Ethyl Corporation in response to EPA's December 9, 1993 federal register notice [58 Fed. Reg. 64761 (1993)]
- Hurley RG, Hansen LA, Guttridge DL, Gandhi RH, Hammerle RH, Matzo AD (1992) Effect of mileage on accumulation and emission component durability by the fuel additive methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT). SAE paper 920730. Society of Automotive Engineers, Warrendale PA
- Hysell DK, Moore W, Stara JF, Miller R, Campbell KI (1974) Oral toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in rats. Environmental Research 7:158-168

Joselow MM, Tobias E, K  hler R, Coleman S, Bogden J, Gause D (1978) Manganese pollution in the city environment and its relationship to traffic density. *American Journal of Public Health* 68:557-560

Komura J, Sakamoto M (1992) Disposition, behavior, and toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in the mouse. *Arch Environ Contam Toxicol* 23:473-475

Komura J, Sakamoto M (1994) Chronic oral administration of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl altered brain biogenic amines in the mouse: comparison with inorganic manganese. *Toxicology Letters* 73:65-73

La presse, Montréal, mardi 21 juillet 1998

Loranger S, Demers G, Kennedy G, Forget E, Zayed J (1994a) The pigeon (*Columba livia*) as a monitor of atmospheric manganese contamination from mobile sources. *Arch Environ Contam Toxicol* 27:311-317

Loranger S, Zayed J, Forget E (1994b) Manganese contamination in Montreal in relation with traffic density. *Air and Soil Pollution* 74:385-396

Loranger S, Zayed J (1995) Environmental and occupational exposure to manganese : a multimedia assessment. *Int Arch Occup Environ Health* 67:101-110

Loranger S, Zayed J, Kennedy G (1995) Contribution of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) to atmospheric Mn concentration near expressway : dispersion modeling estimation. *Atmos Environ* 29:591-599

- Loranger S, Tétrault M, Kennedy G, Zayed J (1996) Manganese and other trace elements in urban snow near an expressway. *Environ pollut* 92(2):203-211
- Lynam DR, Pfeifer GD, Fort BF, Gelbcke AA (1990) Environmental assessment of MMT fuel additive. *The science of the total environment* 93:107-114
- McGinley PA, Morris JB, Clay RJ, Gianutsos G (1987) Deposition and toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in rat. *Toxicology letters* 36:137-145
- Moore WJr, Hall L, Crocker W, Adams J, Stara JF (1974) Metabolic aspects of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in rats. *Environmental Research* 8:171-177
- N.R.C. (1973) Manganese. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- O.M.S. (1981) Le manganèse. Critères d'hygiène de l'environnement. Genève, Suisse, 123 pages
- Penny DA, Hogberg K, Traiger GJ, Hanzlik RP (1985) The acute toxicity of cyclopentadienyl manganese tricarbonyl in rat. *Toxicol* 34:341-347
- Pfizer EA, Witherup SO, Larson EE, Stemmer KL (1972) The toxicology of MMT. Dept Environ Health, college of Med, University of Cincinnati, Oh.
- Pfizer EA, Witherup SO, Larson EE, Stemmer KL (1978) Subchronic inhalation toxicity study of methylcyclopentadienyl manganese

tricarbonyl. (Rep. Proj. No. 772-025, Huntingdon Res. Center, NY, to Dr. Theodore Benya, Ethyl Corp., Baton Rouge, La.

Roels H, Lauwerys R, Genet P, Sarhan MJ, de Fays M, Hanotiau I, Buchet JP (1987) Relationship between external and internal parameters of exposure to manganese in workers from a manganese oxide and salt producing plant. *Am J Ind Med* 11:297-305

Sierra P, Loranger S, Kennedy G, Zayed J (1995) Occupational and environmental exposure of automobile mechanics and nonautomotive workers to airborne manganese arising from the combustion of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT). *Am Ind Hyg Assoc J* 56:713-716

Ter Haar GL, Griffing ME, Brandt M, Oberding DG, Kapron M (1975) Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl as an antiknock: composition and fate of manganese exhaust products. *Journal of the Air Pollution Control Association* 25(8):858-860

Thibault C, Chau YK, Yang F, Kennedy G, Gareau L, Zayed J (soumis) Comparison of atmospheric methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl and manganese in different urban areas.

U.S. EPA (1990) Comments on the use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in unleaded gasoline. U.S. EPA, Office of Research and Development, Research Triangle Park, NC.

U.S. EPA (1991) Summary of workshop discussions at the manganese and methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) conference, March 12-15, 1991. U.S. EPA, Office of research and development, Research Triangle Park, NC.

- U.S. EPA (1993) Integrated risk information system (IRIS). Health risk assessment for manganese. Office of Health and Environmental Assessment, Cincinnati, OH.
- U.S. EPA (1997) Manganese. Integrated risk information system (IRIS) substance file. U.S. EPA, Office of Health and Environmental Assessment, Cincinnati, OH.
- Weil CS, Wright GJ (1967) Intra and interlaboratory comparative evaluation of single oral test. *Toxicology and Applied Pharmacology* 11 :378-388
- Wood G, Egyed M (1994) Risk assessment for the combustion products of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. Health Canada, Ottawa, Canada.
- Zayed J, Gérin M, Loranger S, Sierra P, Bégin D, Kennedy G (1994) Occupational and environmental exposure of garage workers and taxi drivers to airborne manganese arising from the use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in unleaded gasoline. *Am Ind Hyg Assoc J* 55:53-58
- Zayed J, Bande H, L'Espérance G (1999a) Characterization of manganese-containing particles collected from the exhaust emissions of automobiles running with MMT additive. *Environ Sci Technol* 33:3341-3346
- Zayed J, Pitre J, Rivard M, Loranger S (1999b) Evaluation of pollutant emissions related to the use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. *Water Air Soil Pollut* 109:137-145

Zayed J, Thibault C, Gareau L, Kennedy G (1999c) Airborne manganese particulates and methycyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) at selected outdoor sites in Montreal. *Neurotoxicol* 20(2-3) :151-158