

WORLD HEALTH
ORGANIZATIONORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ

WHO/Mal/28

ORIGINAL : ITALIEN

10 décembre 1948

COMITE D'EXPERTS SUR LE PALUDISME

Le Secrétaire du Comité d'experts du Paludisme a l'honneur de communiquer ci-joint une étude du Professeur Dr Maria E. ALESSANDRINI* du Laboratoire de Chimie de l'"Istituto Superiore di Sanità" (Directeur: M. le Professeur D. Marotta), Rome.

(Cette étude a déjà paru, en italien, dans les "Annali di Chimica Applicata", 1948, et dans les "Rendiconti dell'Istituto Superiore di Sanità", 1948, XI, 521-530. Elle traite d'une méthode simple, applicable dans la pratique, et qui a déjà été amplement utilisée en Sardaigne, dans la campagne pour l'éradication des anophèles. Il est donc probable qu'elle sera appréciée par d'autres chercheurs. Le Dr J.R. Busvine a exposé cette méthode à la réunion de laboratoire du 1er juillet 1948, de la "Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene", à Londres.)

UNE METHODE RAPIDE POUR METTRE EN EVIDENCE ET DETERMINER DE FAIBLES
QUANTITES DE DDT SUR DES SURFACES

La lutte antipaludique au moyen du DDT est un procédé qui a généralement remplacé avec des résultats très heureux ceux qui étaient en usage jusqu'ici. Pour en assurer le succès, il importe beaucoup de connaître quelle est la quantité de DDT qui, même longtemps après le traitement, reste sur les surfaces, qu'elles aient été traitées par des solutions dans le pétrole, des émulsions aqueuses, des poudres mouillables ou des brouillards. Cette connaissance nous permet aussi de dépister d'éventuelles négligences ou omissions survenues dans les opérations de pulvérisation, de résoudre des contestations variées, de comparer l'efficacité des diverses méthodes d'application, enfin, d'éviter le gaspillage d'un produit assez coûteux.

* L'auteur a bien voulu fournir un certain nombre d'échelles chromatiques dont un exemplaire est inclus.

Il importe à cet effet de pouvoir recourir à une méthode rapide et sensible, qui puisse être facilement employée, même sur le terrain avec des moyens réduits, pour déceler et éventuellement déterminer, avec une exactitude suffisante, de petites quantités de DDT sur les surfaces diverses qui ont été aspergées : locaux d'habitation, étables, porcheries, grottes, caves, etc.

L'on connaît de nombreuses méthodes colorimétriques très sensibles qu'il est possible de suivre plus ou moins facilement et rapidement dans un laboratoire, comme par exemple celles de S.W. CHAICHIN,¹ de G.L. BAILES et M. G. PAYNE,² de M. S. SCHLECTER, S.E. SOLOWAY, R.H. HAYES et H.L. HALLER.³⁻⁴ Ces méthodes sont applicables à des échantillons de DDT pur ou mélangé à des substances inertes, et peuvent être appliquées avec facilité, même à des surfaces aspergées, bien que certaines de ces méthodes ne soient pas spécifiques. Celle de W. CHAICHIN, par exemple, détermine une coloration jaune qui peut être également provoquée par d'autres substances. Il est ainsi impossible de l'utiliser, pour des surfaces aspergées avec des solutions de DDT dans des huiles minérales lourdes (comme ce peut être le cas, par exemple, pour traiter des ponts, grottes, etc.) parce qu'alors la coloration obtenue n'est plus jaune, mais bien tout à fait brune.

Pour autant que l'auteur en est informé, la réaction de H.A. STIFF Jr et de J.C. CASTILLO,⁵⁻⁶ est la seule méthode qui puisse être effectuée sur place et avec des moyens restreints, mais elle ne constitue qu'une recherche qualitative. Elle se fonde sur la coloration rouge qui se produit par la présence de DDT dans une solution de xanthidrol dans de la pyridine anhydre. La méthode est simple, sensible et rapide, mais, outre qu'elle ne constitue pas une réaction spécifique, comme l'ont constaté F. IRREVERE et N.C. SHARPLESS,⁷ et comme le reconnaissent les auteurs eux-mêmes, elle présente l'inconvénient grave que l'humidité trouble la réaction.

Les auteurs ont conseillé d'ajouter à la solution une ou deux pastilles, d'environ 125 mg. chacune; d'hydrate de potassium pour absorber l'humidité, mais cette quantité est parfois insuffisante; aussi, particulièrement dans les endroits humides, importe-t-il d'en augmenter la dose : 7 à 8 et même 10 pastilles. Cette adjonction constitue indubitablement un désavantage, spécialement si celui qui doit appliquer la méthode n'est pas un chimiste. D'autre part, la pyridine ne se maintient pas anhydre pendant longtemps et doit être souvent déshydratée et redistillée; sans compter qu'en Italie il est difficile de trouver de la bonne pyridine et que, quand on réussit à s'en procurer, elle est assez coûteuse. En outre, bien que la méthode soit, en théorie, très sensible, dans la pratique, les auteurs eux-mêmes conseillent de faire la réaction sur une surface correspondant, en mesures métriques, à 77 cm² (10,3 x 7,5 cm) et qui n'est, par conséquent, pas très exigüe.

Pour les raisons indiquées ci-dessus, et à la demande des autorités dirigeantes de l'ERLAAS (Ente Regionale per la Lotta Anti Anofelica in Sardegna), l'auteur s'est mis à la recherche d'une autre méthode qui réponde mieux au but visé et aux nécessités de l'ERLAAS qui, avec la collaboration de la Fondation Rockefeller, est chargée de la lutte antipaludique intégrale dans toute la Sardaigne.

Si l'on tient compte du fait déjà noté ⁸ précédemment par l'auteur que le tétranitro-dérivé du DDT, dissous dans le benzol, donne une coloration intense non seulement avec le méthylate de soude dans un milieu parfaitement anhydre, comme l'ont relevé M.S. SCHLECTER, S.B. SOLOWAY, R.H. HAYES et H.L. HALLER [Loc. cit. 3-4] mais même, avec une solution de potasse dans l'alcool en milieu non anhydre, il semblait logique d'utiliser cette propriété pour mettre au point une méthode qui permettrait d'atteindre le but visé. Les résultats ont été satisfaisants.

En procédant à une forte nitration de la poudre obtenue en raclant une petite portion de la surface aspergée et en extrayant avec du benzol les produits de cette nitration et en traitant ensuite avec une solution alcoolique de potasse approximativement normale, l'on obtient une coloration qui varie du bleu-pâle au bleu le plus intense et, finalement, au violet avec forte fluorescence bleue, selon qu'il existe respectivement des quantités moins ou plus élevées de DDT. Avec l'isomère pp' pur du DDT, les colorations obtenues sont d'un bleu ou d'un violet plus intense et plus brillant par comparaison avec les colorations obtenues au moyen de DDT technique. Celles-ci sont moins intenses et tendent plutôt vers le bleu verdâtre pour les petites quantités et, pour les quantités plus considérables, vers un violet moins brillant et plus brunâtre. Toutes ces colorations virent - lentement à froid, et plus rapidement à chaud - au vert, au vert-jaune et, finalement, au jaune pur pour les petites quantités, et au jaune brunâtre pour les plus grandes. C'est dans un délai de 24 heures, et même moins, qu'apparaissent les colorations jaunes plus ou moins intenses qui se maintiennent ensuite stables pendant plusieurs jours. Il arrive parfois que pour des quantités de DDT supérieures à 0,001 gr., présentes à l'origine, des petits cristaux rouges se séparent après 24 heures. La méthode est extraordinairement sensible. L'on obtient en effet, même avec 2 gamma de DDT, une coloration faible, mais nette.

L'auteur compte revenir, dans une prochaine note, sur la nature des produits ainsi formés. En fait, dans une note précédente, elle s'était limitée à donner connaissance de la méthode qualitative mais s'était engagée à fournir dans le plus bref délai des données quantitatives et ce sont ces données qu'elle précise, justement, dans la partie expérimentale de la présente note, après que des centaines de vérifications sur place et au laboratoire furent exécutées par elle-même et par d'autres expérimentateurs.

Il est possible, toutefois, d'affirmer d'ores et déjà que le produit bleu est un sel de potasse. En fait, en acidifiant, la couleur disparaît et reparaît de nouveau après l'addition d'une base. Le produit cristallisé rouge, soluble dans une solution benzéno-alcoolique alcaline à coloration jaune serait, par rapport au composé bleu, un produit déchloruré. La déchloruration à froid et en solution benzénique se produirait très lentement.

DETERMINATION DU DDT SUR LE TERRAIN

Pour la recherche et la détermination du DDT sur le terrain, en quelques minutes et avec des moyens restreints, il faut disposer des réactifs et produits suivants :

Mélange sulfonitrique - A préparer au moment de chaque série d'essais, en mélangeant avec précaution 10 cm³ d'acide sulfurique concentré (densité 1,84 environ) avec 14 à 15 cm³ d'acide nitrique fumant (densité 1,52 environ).

Benzol pur -

Solution alcoolique de potasse - Approximativement normale (environ 56 g. d'hydrate de potassium par litre).

Un petit séparateur cylindrique de 25 cm³ environ, quelques éprouvettes sèches, quelques petites éprouvettes graduées de 5 cm³, de petits tubes de verre calibrés ayant exactement un diamètre intérieur de 7,2 mm. et longs d'environ 10 cm, une lampe à alcool, un support à éprouvettes en bois, au besoin un thermomètre gradué de 0° à 150° et une échelle chromatique sur papier préparée comme nous le verrons par la suite. Le tout peut être facilement contenu dans une petite caisse portative fabriquée à cette fin.

Exécution de la réaction

Opérer exactement de la façon suivante : racler avec un petit couteau une surface d'environ 25 cm² (un petit carré d'environ 5 cm de côté) de la surface traitée (crépi, enduit, brique ou pierre) en recueillant la poudre sur une petite feuille de carton. En prélevant ces échantillons, veiller à ne pas râcler de façon trop superficielle, auquel cas l'on risquerait de ne pas enlever la totalité du DDT. Il serait possible, aussi, d'opérer sur une surface beaucoup plus petite, car avec la grande sensibilité de la méthode, un cm² serait plus que suffisant. Mais comme, généralement, l'aspersion ne peut être réalisée de façon parfaitement uniforme, il vaut mieux, pour obtenir un échantillon correspondant à une valeur moyenne, opérer sur une surface plus grande.

D'après l'expérience propre de l'auteur, la surface la plus convenable est celle de 25 cm² mentionnée plus haut. Toutefois, si l'aspersion a été exécutée récemment et dans de bonnes conditions, cas dans lequel environ deux grammes de DDT devraient être présents par m² et par conséquent environ 0,005 gr. dans les 25 cm² de surface râclée, il y a lieu de n'employer pour l'analyse qu'une fraction déterminée de la poudre (ne serait-ce que le quart ou le cinquième), afin d'éviter une coloration trop intense qui se prête moins bien à la comparaison avec l'échelle chromatique. Si, au contraire, l'aspersion a été exécutée depuis un certain temps, employer la moitié ou même la totalité de la poudre selon le délai écoulé.

Verser la poudre dans une éprouvette bien sèche et y ajouter 3 à 4 cm³ de mélange sulfonitrique préparé comme il est indiqué ci-dessus. Faire bouillir très légèrement pendant 2 à 2 1/2 minutes. La température d'ébullition ne doit pas dépasser 100° ou, tout au plus, 110°. Pour l'opérateur qui ne serait pas encore familiarisé exactement avec l'opération à pratiquer, il est souhaitable, en vue de contrôler la température,

de tenir, au cours de l'ébullition, un thermomètre plongé dans le mélange. Après avoir laissé refroidir, verser avec précaution, et en agitant, le mélange acide dans le petit entonnoir séparateur contenant 8 à 10 cm³ d'eau, laver l'éprouvette avec 1 à 2 cm³ d'eau et la verser aussi dans le séparateur; enfin ajouter, en le mesurant avec une petite éprouvette graduée, 3 cm³ de benzol pur puis agiter très énergiquement et à plusieurs reprises. Laisser se séparer les deux couches de liquide, jeter la suspension aqueuse inférieure et recueillir la solution au benzol dans une autre éprouvette sèche ou dans une petite éprouvette graduée de 5 cm³. Y ajouter environ 2 cm³ de solution, approximativement normale, de potasse dans l'alcool de façon à atteindre un volume d'ensemble de 5 cm³. Bien agiter (pour faire la détermination quantitative, ne pas réchauffer, comme il a été indiqué pour la seule recherche qualitative, car la chaleur facilite et accélère la formation de la couleur, mais aussi la fait virer plus rapidement). Transvaser enfin une partie du mélange alcalin benzolo-alcoolique (environ 2 cm³) dans un des petits tubes de verre calibrés de diamètre intérieur mesurant exactement 7,2 mm. et longs d'environ 10 cm. Attendre une ou deux minutes et même plus, jusqu'à ce que la coloration ait atteint son maximum d'intensité, la comparer avec la coloration bleue ou violette de l'échelle chromatique ci-jointe pour le DDT technique, et lire directement sur l'échelle les mg. de DDT présents à l'origine qui se rapportent aux 5 cm³ de solution basique benzolo-alcoolique, c'est-à-dire l'échantillon traité, correspondant soit à 25 cm² de la paroi examinée soit à une fraction de cette surface.

En comparant les colorations avec l'échelle colorimétrique établie pour le DDT technique, on arrive à des résultats d'une approximation suffisante; si on les compare aussi avec l'échelle établie pour le DDT pp', on pourra même se faire une idée de la quantité approximative d'isomère pp' présent.

Après 24 heures, l'on peut procéder à une seconde comparaison entre la coloration du même petit tube et les teintes jaunes de l'échelle. Dans la majorité des cas, il existe une correspondance presque parfaite entre les valeurs quantitatives de DDT indiquées par les colorations bleues, et celles indiquées par les colorations jaunes. Comme l'auteur l'a déjà fait observer, celles-ci se maintiennent stables pendant plusieurs jours, à condition que les petits tubes soient hermétiquement bouchés. Mais dans quelques cas, une correspondance parfaite ne se réalise pas, et l'usage des colorations jaunes donne des valeurs plus élevées. Cette particularité peut être attribuée, soit à une altération du DDT, soit à la présence de substances étrangères qui ont contribué à renforcer la coloration jaune sans augmenter la bleue. Quand donc il ne se produit pas de correspondance entre les deux valeurs, il faut ne tenir compte que de la valeur obtenue à partir de la coloration bleue.

Par exemple, les solutions-mères concentrées, surtout les solutions à 26 % et à 32,7 % de DDT provenant d'Amérique et qui servent à préparer les émulsions aqueuses, contiennent des émulsifs appartenant au groupe des "TRITONS" (Triton X 30, X 100, X 200, X 400, etc.). Sous le terme de "Triton" on désigne un mélange de l'émulsif véritable avec de nombreuses autres substances, mélange qui varie suivant le type d'émulsif. La composition chimique exacte de ces émulsifs est gardée secrète.

Dans les solutions-mères mentionnées ci-dessus, l'émulsif généralement employé est le Triton X 100 dont le principe actif est un alcool de poids moléculaire élevé (hydroxypolyether arylé et alcoolé) sous forme anhydre. L'auteur a eu la possibilité d'examiner ce Triton.

Il se présente sous forme d'une huile qui est soluble en toutes proportions, dans l'eau et dans l'alcool et qui est soluble à 50 % dans l'éther et la glycérine. Il donne, par nitration dans les conditions citées ci-dessus, une coloration jaune-rougeâtre.

Les pourcentages de Tritons existant dans les solutions aqueuses sont toutefois extrêmement faibles. En outre, le Triton est rapidement absorbé par les murs et parois, tandis que le DDT se tient plus en surface, sous sa forme cristalline. Si l'aspersion a eu lieu récemment, il peut se faire qu'une trace de Triton soit prélevée en même temps que le DDT mais, dans la réaction, cette trace n'altère pas la coloration bleue; elle lui donne tout au plus une tonalité un peu plus verdâtre, alors que la coloration jaune peut se montrer légèrement renforcée.

L'échelle chromatique* ci-jointe qui, pratiquement se montre des plus utiles surtout dans les opérations sur le terrain, a été reproduite d'après les colorations obtenues et avec des quantités connues soit de pp' DDT pur de provenance américaine ayant son point de fusion à 108-109°, soit de DDT technique, également de provenance américaine, avec point de fusion à 92-93°, type plus généralement utilisé. (Pour un bon DDT technique, le point de fusion ne doit pas être inférieur à 88°. Plus il est élevé, plus est élevé également le pourcentage d'isomère pp'.) On a donc préparé des solutions dans l'éther à 0,1 pour cent et on a pratiqué différents prélèvements quantitatifs de DDT, toujours dans les mêmes solutions. On a laissé évaporer l'éther à la température de la chambre et l'on a procédé aux réactions avec le résidu.

Parmi les divers types de DDT techniques, à point de fusion à 90-95°, qui ont été examinés, il ne s'est pas rencontré de différences de coloration appréciables.

La méthode a été étudiée et mise au point en vue de l'utilisation pratique à laquelle elle devait se prêter et dans laquelle des résultats très satisfaisants ont été obtenus.

Les colorations bleues qu'il est possible de comparer le mieux sont celles qui ont été obtenues avec des quantités de DDT comprises entre 0,001 et 0,0001 g., mais pour l'utilisation pratique, l'auteur a considéré qu'il était utile de préparer une échelle allant jusqu'à 0,005 g.

Un colorimètre, tel celui de Hellige, pourrait aussi donner des résultats satisfaisants sur le terrain. Mais à présent, en Italie, il ne serait pas possible de fabriquer des verres colorés ayant les teintes exactes.

En dehors des superficies aspergées sur crépi, enduit, brique ou pierre, comme dans la plupart des habitations rustiques, étables, porcheries, caves, etc., il peut être nécessaire, parfois, de procéder à des

* Dans l'échelle chromatique, malheureusement, la reproduction des couleurs a été légèrement faussée, malgré les essais répétés pour la perfectionner. Cela est vrai surtout pour les couleurs obtenues avec l'isomère pp' (par exemple, la couleur correspondant à 0,8 mg. de l'isomère pp' est plus foncée que celle correspondant à des quantités plus élevées), moins vrai pour celles concernant le produit technique où l'échelle a donc toute son utilité.

déterminations dans d'autres cas, comme par exemple sur des parois de bois, sur des murs peints ou tapissés de papier ou d'étoffe ou sur du verre - auquel cas, évidemment, il est impossible de râcler - ou bien encore dans l'eau, où le DDT a été répandu pour détruire les larves. Dans le cas de parois où l'on ne peut procéder à un râclage, il faut opérer en prenant avec des pinces un petit tampon d'ouate plongé au préalable dans l'éther et que l'on passera à plusieurs reprises sur la surface de la paroi traitée au DDT. Laver le tampon dans de l'éther pur et répéter le traitement deux ou trois fois. Mélanger les diverses quantités d'éther employées, faire évaporer dans un solvant et à la température de la chambre, procéder ensuite à la détermination du DDT sur le résidu selon la méthode ordinaire.

Pour les eaux, où il est du plus grand intérêt de savoir pendant combien de temps le DDT demeure sans s'altérer - car il semble que certaines eaux, lentement, déchlorurent ce produit - on peut aussi opérer en procédant à une extraction par l'éther. Pour d'autres cas, on choisira un procédé adéquat.

L'auteur a appliqué fréquemment et avec avantage cette méthode, même pour déterminer de petites quantités de DDT déposées sur des feuilles et sur des fruits. En pareil cas, il y a lieu d'opérer de la façon suivante : Prendre les feuilles et les fruits avec une pince ou entre deux doigts et les laver à plusieurs reprises avec de l'éther au moyen d'un vaporisateur ou d'une pipette, en recueillant l'éther dans une capsule. Le DDT s'enlève immédiatement. Il faut éviter de laisser tremper les feuilles et les fruits dans l'éther parce que d'autres substances, en dehors du DDT, et particulièrement la chlorophylle, pourraient de cette façon se dissoudre dans l'éther en quantité considérable et troubler ainsi les colorations. Laisser s'évaporer l'éther à la température ambiante et traiter le résidu comme d'habitude.

Si, toutefois, l'on peut opérer dans un laboratoire et que l'on désire obtenir des résultats plus précis, l'on peut exécuter les déterminations au moyen du photomètre de Pulfric. A cette fin, l'auteur se propose de reproduire, pour les différentes concentrations, les courbes typiques d'absorption soit pour le pp' DDT, soit pour le DDT technique de même que pour le produit bleu et le produit jaune, ainsi que les courbes de gradation pour les filtres les mieux appropriés.

Pour le moment, l'auteur s'est limitée à déterminer seulement avec ce photomètre la courbe typique d'absorption du produit bleu, obtenu par addition d'une solution alcoolique d'hydrate de potassium au dérivé tétranitré pur du DDT pp' dissous dans le benzol. Les études ont été faites sur deux concentrations différentes et avec des filtres S 43, 45, 47, 50, 53, 57, 61, 75 (figure No 1). Les valeurs obtenues pour $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}}$ se rapportent à la concentration de DDT et non au dérivé tétranitré.

Les hauteurs différentes sur l'axe des abscisses des courbes peuvent être attribuées en grande mesure à une déviation par rapport à la loi de Beer.

RESUME

La présente étude décrit une méthode colorimétrique rapide et très sensible qui peut être appliquée facilement, tant dans le laboratoire que sur le terrain et avec des moyens limités pour la recherche et le dosage de petites quantités de DDT sur des surfaces diverses traitées

avec des solutions de DDT dans le pétrole, des poudres mouillables, des émulsions aqueuses ou des brouillards. L'auteur a préparé une échelle chromatique de grande utilité pratique, particulièrement sur le terrain, et permettant de lire directement des quantités de DDT comprises entre 0,0001 g. et 0,005 g., d'après les colorations obtenues par sa méthode.

OUVRAGES CITES

- (1) Ind. Eng. Chem. An. Ed., 18, 272 (1946)
- (2) Ind. Eng. Chem. An. Ed., 17, 438 (1945)
- (3) Ind. Eng. Chem. An. Ed., 17, 704 (1945)
- (4) Am. Chem. Soc., 66, 2129 (1944)
- (5) Science, 101, 440 (1945)
- (6) Ind. Eng. Chem. An. Ed., 18, 316 (1946)
- (7) Science, 102, 304 (1945)
- (8) Rend. Istituto Superiore di Sanità, X, 807 (1947)
- (9) Ann. Chim. Applicata, 38, 53 (1948)

Fig. 1 - ABSORPTION CURVES OF THE BLUE-COLOURED PRODUCT (See Text, page 12)
COURBE D'ABSORPTION DU PRODUIT BLEU (Voir texte, page 7)

E. l cm

