

INTOXICATION CHRONIQUE DUE AU D. D. T.

Riassunto. — Sin dal 1950, nell'*Istituto Superiore di Sanità* si sono effettuate esperienze per stabilire in quale misura il DDT, ingerito con gli alimenti ordinari, poteva causare lesioni di carattere patologico, specialmente negli organi in cui la sostanza tossica una volta assimilata ha tendenza ad accumularsi.

La tossicità del DDT era già stata provata sperimentalmente da altri ricercatori, e perciò l'Istituto si è proposto di studiare le circostanze e la gravità dell'intossicazione causata dal DDT allo scopo di determinare fino a qual punto si possono, senza pericolo, impiegare preparati a base di DDT per disinfestare il grano destinato all'alimentazione umana.

Dopo una serie di prove a titolo di orientamento generale, esperienze conclusive sono state fatte su un gruppo di cavie sottoposte a un regime alimentare comprendente della crusca addizionata di DDT nella proporzione di 1/1000.

Questo trattamento è durato due anni.

L'esame istologico delle cavie, man mano che morivano, ha fornito i dati seguenti:

Cervello, cervelletto, cuore, testicolo e pancreas: niente a osservare.

Polmone: congestione polmonare diffusa con frequenti emorragie interstiziali e intra-alveolari. Presenza di alcune infiltrazioni del tipo linfocitario, spesso con una disposizione a manicotto intorno ai vasi sanguigni. Su alcuni di questi vasi si notano edema e un ingrossamento più o meno marcato della parete.

Milza: reazione reticolare al livello della polpa rossa con zone di aspetto compatto. Numerosi depositi di emosiderina nel tessuto connettivo e soprattutto nelle sue cellule macrofagiche. Alterazioni della parete di certi vasi del follicolo (simili a quelle che abbiamo descritto per il polmone).

Fegato: leggera iperemia diffusa con degenerazione torbida dell'epitelio tubolare.

Glandole surrenali: iperemia leggera dal lato più interno della corticale, qualche volta con emorragia e deposito di emosiderina in alcune cellule.

Utero: iperemia moderata dell'endometrio con formazioni glandolari cistiche (1 caso).

L'esame chimico ha mostrato che in tutti gli organi soggetti all'accumulazione si potevano scoprire delle quantità di DDT, varianti fra 0,1 mg. e 0,3 mg. circa.

Queste esperienze pertanto confermano che un regime alimentare comprendente anche dosi minime di DDT può provocare l'accumulazione negli organi predisposti, quando l'ingestione ha carattere abituale.

Résumé. — Depuis 1950, des expériences ont été effectuées à l'*Istituto Superiore di Sanità* en vue d'établir dans quelle mesure le DDT, ingéré avec les aliments ordinaires, pouvait causer des lésions de caractère pathologique, notamment aux organes où la substance toxique une fois assimilée a tendance à s'accumuler.

La toxicité du DDT avait été déjà prouvée expérimentalement par d'autres chercheurs, aussi l'Institut s'est-il proposé d'étudier les circonstances et la gravité de l'intoxication par le DDT afin de déterminer jusqu'à quel point on peut, sans danger, employer des préparations à base de DDT pour désinfecter le blé destiné à l'alimentation humaine.

Après une série d'essais d'orientation générale, des expériences concluantes ont été faites sur un groupe de cobayes soumis à un régime alimentaire comprenant du son additionné de DDT dans la proportion d'1/1000.

Ce traitement a duré deux ans.

L'examen histologique des cobayes à mesure qu'ils mouraient, a fourni les données suivantes:

Cerveau, cervelet, coeur, testicule et pancréas: rien à relever.

Poumon: congestion pulmonaire diffuse avec de fréquentes hémorragies interstitielles et intra-alvéolaires. Présence de quelques infiltrations du type lymphocytaire, souvent avec une disposition à manchon autour des vaisseaux sanguins. On note sur certains de ces vaisseaux de l'oedème et un grossissement plus ou moins marqué de la paroi.

Rate: réaction réticulaire au niveau de la pulpe rouge avec des zones d'aspect compact. De nombreux dépôts d'hémosidérine dans le tissu connectif et surtout dans ses cellules macrophagiques. Altérations de la paroi de certains vaisseaux du follicule (semblables à celles que nous avons décrites pour le poumon).

Foie: légère hyperémie diffusée avec dégénération trouble de l'épithélium tubulaire.

Glandes surrénales: hyperémie légère du côté le plus interne de la corticale, quelquefois avec hémorragie et dépôt d'hemosidérine dans certaines cellules.

Utérus: hyperémie modeste de l'endomètre avec formations glandulaires cystiques (1 cas).

L'examen chimique a montré qu'on pouvait déceler dans tous les organes sujets à l'accumulation, des quantités de DDT, variant entre 0,1 mg et 0,3 mg environ.

Ces expériences confirment par conséquent qu'un régime alimentaire comportant même des doses minimales de DDT peut provoquer l'accumulation dans les organes prédisposés, lorsque l'ingestion a un caractère habituel.

Summary. | Experiments have been carried out since 1950 at the Istituto Superiore di Sanità with a view to establishing to what degree DDT, ingested with ordinary diet, might cause lesions of a pathological nature, especially in organs where the toxic substance has a tendency to accumulate after being assimilated.

The toxicity of DDT had already been experimentally proved by other research workers; the Institute decided to study the circumstances and the seriousness of intoxication by DDT, in order to determine up to what point it is possible, without danger, to employ preparations with a DDT basis to disinfect wheat destined for human consumption.

After a series of general trials, conclusive experiments were carried out on a group of guinea-pigs placed on a diet composed of bran, with DDT added in the proportion of 1/1000.

This treatment lasted two years.

Histological examination of the guinea-pigs, as they died off, gave the following results:

Brain, cerebellum, heart, testicles and pancreas: nothing to note.

Lung: Diffuse pulmonary congestion with frequent interstitial and intra-alveolar haemorrhages. Some lymphocyte infiltrations were present, often with a tendency to muffle formation around the blood vessels. In certain of these vessels oedema and more or less marked enlargement of the wall was noticed.

Spleen: Reticular reaction in the pulp, showing areas with a compact appearance. Many haemosiderin deposits in the connective tissue and especially in the macrophage cells. Changes in the wall of certain follicular vessels (similar to those described in the lung).

Liver: Slight diffuse hyperaemia with cloudy degeneration of the tubular epithelium.

Suprarenal glands: Slight hyperaemia in the innermost area of the cortex, sometimes with haemorrhage and haemosiderin deposits in certain cells.

Uterus: Slight hyperaemia of the endometrium with cystic glandular formation (1 case).

Chemical examination showed that in all the organs subject to accumulation, quantities of DDT could be discovered, varying between approx. 0.1 mg. and 0.3 mg.

These experiments consequently confirm that a diet comprising even small doses of DDT can cause accumulation in predisposed organs, when ingestion is habitual.

Zusammenfassung. — Schon seit 1950 sind im « Istituto Superiore di Sanità » Versuche gemacht worden um zu bestimmen, in welchem Umfang das DDT, wenn es mit den gewöhnlichen Lebensmitteln eingenommen wird, Verletzungen mit pathologischem Charakter verursachen konnte, besonders in Organen, in welchen die toxische Substanz, nachdem sie einmal assimiliert worden ist, eine Tendenz zur Akkumulation hat.

Die Toxizität des DDT war schon experimentell von anderen Forschern nachgewiesen worden, und daher hatte sich das Institut zum Ziel gesetzt, die Umstände und die Schwere der Intoxikation durch DDT zu studieren, und zu bestimmen, bis zu welchem Punkt DDT-enthaltende Präparate zur Desinfektion des für menschliche Ernährung bestimmten Kornes verwendbar sind.

Nach einer Reihe von Versuchen zwecks allgemeiner Orientierung, wurden abschliessende Experimente mit einer Gruppe von Meerschweinchen gemacht, die einer Diät unterzogen wurden, wo Kleie mit Zusatz von DDT in Verhältnis 1/1000 vermischt war.

Diese Behandlung dauerte zwei Jahre.

Die histologische Untersuchung der Meerschweinchen, nach dem Tode eines jeden, ergab die folgenden Daten:

— Gehirn, Kleinhirn, Herz, Hode und Pankreas: nichts zu bemerken.

— Lunge: Diffuse Lungenkongestion mit häufigen interstitiellen und intra-alveolaren Blutungen. Vorhandene Infiltrationen lymphozytärer Art, häufig mit einer muffenartigen Anordnung ringsum die Blutgefässe. Auf einigen der letzteren kann man Oedem und eine mehr oder weniger deutliche Vergrösserung ihrer Wand bemerken.

— Milz: Retikuläre Reaktion am Niveau der roten Pulpa mit dichter

ter aussehenden Zonen. Zahlreiche Sedimente von Hämosiderin im Bindegewebe, insbesondere in den makrophagischen Zellen. Veränderungen in der Wand gewisser Gefässe des Follikels (ähnlich wie die oben angegebenen Änderungen der Lunge).

— Leber: Nicht bedeutende diffuse Hyperämie mit schlaffer Entartung des röhrenförmigen Epithels.

— Über der Niere gelegene Drüsen: Nicht schwere Hyperämie auf der Innenseite der Kortikalen, manchmal mit Blutung und Sedimenten von Hämosiderin gewissen Zellen.

— Uterus: Mässige Hyperämie des Endometriums mit cystischen Drüsenbildungen (1 Fall).

Die chemische Untersuchung hat bewiesen, dass in allen Organen, die der Akkumulierung ausgesetzt sind, Mengen von DDT zwischen etwa 0.1 mg. und 0.3 mg. entdeckt werden konnten.

Diese Experimente bestätigen daher, dass eine Diät, die auch minimale Dosen von DDT enthält, eine Akkumulierung in prädisponierten Organen hervorrufen kann, wenn deren Einführung mit der Diät zur Gewohnheit geworden ist.

Dès 1930 l'Istituto Superiore di Sanità a entrepris des expériences dans le but d'examiner la possibilité que le D.D.T., ingéré avec les aliments ordinaires, puisse donner lieu à des lésions pathologiques des organes où la substance toxique assimilée s'accumule le plus facilement.

D'autres chercheurs avaient déjà donné précédemment la démonstration expérimentale de cette possibilité, mais ce qui intéressait l'Institut était de définir le cadre et l'importance de cette intoxication pour connaître jusqu'à quel point il était permis d'employer des préparations à base de D.D.T. pour désinfester le blé destiné à l'alimentation humaine.

En d'autres mots, on désirait savoir si le phénomène de l'accumulation pouvait se vérifier même dans le cas d'ingestions de doses minimales, mais continuelles par répétitions indéfinies dans le temps, comme cela peut arriver en consommant la ration quotidienne de pain préparée avec de la farine provenant de blé désinfesté.

Dans cette farine, provenant de blé passé au séparateur et à la machine de décortication, et séparé du son au cours de broyements successifs, il ne reste que des traces de D.D.T., selon les essais du Dr. Adam, chimiste cantonal de Lucerne.

Pour faire pratiquement le contrôle susdit, on a entrepris d'abord

des expériences sur un groupe de 200 cobayes, soumis à un régime partiellement adultéré, c'est-à-dire constitué par une dose de son adultérée et une dose de nourriture normale .

Le son était adultéré dans la mesure de un pour mille avec une préparation contenant neuf parties de talc et une de D.D.T., de sorte que, dans le son, il y avait une partie sur mille de D.D.T. et neuf parties sur mille de talc.

Une certaine quantité de cobayes a été alimentée partiellement, comme on vient de le dire, avec du son adultéré de D.D.T., une autre au contraire, avec du son adultéré seulement avec du talc dans la même mesure de neuf parties sur mille.

Après un mois de traitement on a du constater de nombreux avortements, suivis presque toujours de la mort, soit chez les cobayes à régime adultéré au D.D.T., soit chez les cobayes à régime adultéré avec du talc seulement.

On trouvait, à l'examen histologique, un même cadre de diathèse hémorragique, sans aucune différence soit chez les cobayes soumis au régime adultéré par le talc-D.D.T., soit chez ceux qui étaient soumis au régime adultéré par le talc seulement.

On avait cru opportun de se servir de talc dans les traitements en question pour délayer le D.D.T. en une poudre plus facilement mélangeable, à cause de sa composition homogène, avec le son qu'il fallait adultérer, et on avait renoncé à l'emploi d'une solution de D.D.T. dans l'huile, pour éviter la formation de grumeaux, riches en matières infectieuses, au préjudice de l'homogénéité du mélange.

Ayant cependant constaté l'influence nuisible du talc, à la dose où son emploi pouvait être utile, on a du se rendre compte qu'il était nécessaire d'éliminer ce moyen de rendre le produit homogène, et on a mélangé le son directement avec le D.D.T., sans recourir à l'intervention d'intermédiaires.

On a donc mélangé le son avec du D.D.T. microcristallin, en soumettant le mélange à l'action d'un mélangeur mécanique, pendant dix minutes, ce qui est suffisant à garantir l'uniforme distribution de la substance adultérante.

Celle-ci était toujours employée dans la mesure de l'1 pour 1000 par rapport au son.

On a soumis à l'expérience un nouveau groupe de 100 cobayes; les premières morts furent enregistrées après dix jours et les dernières après soixante jours de traitement.

La recherche du D.D.T. a été faite sur l'ensemble des organes de chaque cobaye, (poumon, rate, coeur, cerveau, pancréas, foie, rein), en

employant une méthode d'analyse, ⁽¹⁾, qui élimine l'influence des substances étrangères, et permet de déceler la présence d'environ 0,1 mg. de p-p', correspondant à environ 0,13 mg. de D.D.T.

La recherche du D.D.T. a donné un résultat positif seulement dans les viscères des cobayes morts après 60 jours de traitement avec repérage d'environ 0,1 mg. de D.D.T.

La quantité de D.D.T. repérée dans les expériences précédentes pourrait sembler presque négligeable. Mais on doit la considérer comme importante, lorsque l'on réfléchit qu'aucun des 100 cobayes examinés n'a survécu au 60^e jour d'expérience, tandis que les morts ont commencé dès le 10^e jour, même si la quantité de D.D.T. localisée dans les entrailles a été inférieure à la quantité minime décelable par la méthode d'analyse employée.

Peut-être ces morts prématurées sont-elles dues à des causes étrangères à celles qui caractérisent l'expérience. Il n'en reste pas moins qu'aucun cobaye examiné n'a résisté aussi longtemps qu'on aurait pu le prévoir.

Il semble par conséquent que l'on n'avait pas réalisé les conditions d'alimentation adultérée avec des doses de D.D.T. assez exigües pour que leur influence puisse se manifester après une période suffisamment longue de traitement.

On a donc décidé de diminuer la quantité de l'adultération en la réduisant de 1 pour 1000 à 1 pour 10.000.

Pour réaliser cette condition d'adultération, on a mélangé 10 kg. de son avec 1 gr. de D.D.T. microcristallin, en soumettant le mélange à 3 heures d'action mécanique dans un mélangeur de dix kg. Ce son était ensuite administré aux cobayes, toujours comme ration partielle de l'alimentation quotidienne, complétée par la ration d'aliments non adultérés.

Ce troisième cycle d'expériences, commencé le 1^{er} Octobre 1951, s'est prolongé jusqu'en Octobre 1953, et continue encore chez les cobayes survivants.

Il a eu pour objet un nouveau groupe de 100 cobayes, dont 10 sont morts pour des causes qui n'avaient rien à voir avec les expériences, tandis que 76 sont morts à cause du traitement à régime d'alimentation adultérée d'une durée variant entre 450 et 700 jours.

RESULTATS DE L'EXAMEN HISTOLOGIQUE

Cerveau : rien à remarquer.

Cervelet : rien à remarquer.

Coeur : rien à remarquer.

Poumon: congestion pulmonaire diffuse avec de fréquentes hémorragies interstitielles et intra-alvéolaires. Présence de quelques infiltrations de type lymphocytaire, souvent avec une disposition à manchon autour des vaisseaux sanguins. On note sur certains de ces vaisseaux de l'oedème et un épaissement plus ou moins marqué de la paroi.

Rate: réaction réticulaire au niveau de la pulpe rouge avec des zones d'aspect compact. De nombreux dépôts d'hémosidérine dans le tissu connectif, et surtout dans les cellules macrophagiques. Altération de la paroi de certains vaisseaux du follicule, (semblables à celles que nous avons décrites pour le poumon).

Foie: grossissement trouble diffusé.

Rein: légère hyperémie diffusée avec dégénération trouble de l'épithélium tubulaire.

Glandes surrénales: hyperémie légère du côté le plus interne de la corticale, quelquefois avec hémorragie et dépôt d'hémosidérine dans certaines cellules.

Pancréas: rien à remarquer.

Utérus: hyperémie modérée de l'endométrium avec formation glandulaire cystique, (1 cas).

Testicule: rien à remarquer.

RESULTATS DE L'EXAMEN CHIMIQUE

La recherche du D.D.T. dans les organes soumis à l'examen a été positive pour tous les cobayes examinés, parmi lesquels, comme on l'a dit, on a constaté les premiers cas de mort depuis le 450^e jour du traitement.

En ligne générale, à l'exception de certains cas qu'on ne peut pas attribuer à l'intoxication, on a pu noter, dans les doses de D.D.T. décelées dans les organes examinés, une augmentation progressive en relation à la plus longue durée de l'expérience, ou, en d'autres mots, à la mort retardée du sujet, à cause de sa plus grande résistance.

Les doses de D.D.T. ainsi révélées varient d'un minimum de 0,1 mg. à un maximum de 0,3 mg., ce qui, si on le rapporte au poids des organes examinés, peut se traduire en un pourcentage variable de 0,0002 à 0,0008.

Ce pourcentage semble tendre vers une stabilisation dans le sens que dans les cas de morts survenues après de plus longs traitements, ce pourcentage ne semble pas augmenter ultérieurement.

De ces expériences on peut conclure que même un régime alimentaire partiellement adultéré avec des doses minimales de D.D.T., lorsque le traitement prend l'allure d'une habitude, peut provoquer une accumulation intoxicante et des altérations dans les organes prédisposés.

La méthode d'analyse employée pour la détermination du D.D.T. dans les expériences décrites, élaborée par le Dr. N. Gandolfo, de cet Institut, est basée surtout sur le fait que soit les substances étrangères, soit le D.D.T., dont on peut cependant révéler jusqu'à 5 mg., sont très peu solubles dans l'alcool dilué dans la proportion de 1 à 1.

C'est ainsi qu'après le traitement et la dessiccation des organes avec du talc et du charbon, on extrait tous les 3/4 d'heure sur bain-marie, avec de l'alcool dilué de 1 à 1.

Après filtration et lavage du résidu avec de l'alcool à la même dilution, on extrait du liquide aqueux résiduel le p-p'-D.D.T., avec du chloroforme, que l'on purifie par l'action répétée de l'acide sulfurique concentré.

Sur le résidu de l'évaporation du solvant, séché au four, on fait enfin la réaction de repérage colorimétrique élaborée par F. R. BRADBURY, D. J. HIGGONS et J. P. STONEMANN. Elle est fondée sur la propriété du p-p'-D.D.T. de produire une coloration rouge vin s'il est traité à chaud avec de l'hydroquinone et de l'acide sulfurique concentré.

En comparant l'intensité de la coloration obtenue avec celle qui correspond à des quantités connues de principe actif, on peut évaluer la quantité de p-p'-D.D.T. présente dans les organes examinés.

(¹) N. GANDOLFO: « Extraction et détermination du D.D.T. dans les organes animaux », Rendiconti dell'Istituto Superiore di Sanità - Vol. XIV.