

Le dosage de l'alcool dans le sang et dans l'haleine et les problèmes qu'il pose

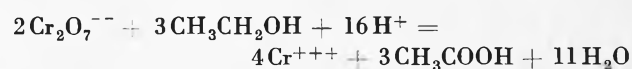
Par Prof. Dr D. Monnier

Département Dosages d'Alcool, Ecole de Chimie, Genève

Dès que la science et la technique eurent mis à la disposition des hommes des moyens rapides et individuels de locomotion, il s'avéra que la plénitude des moyens de ceux qui prenaient les commandes était une des conditions fondamentales de la sécurité routière. Or, parmi les causes d'affaiblissement des facultés physiques et morales, l'alcool vient en première place. C'est pourquoi, au fur et à mesure que se développe la motorisation, les méthodes d'analyse de l'alcool dans le sang se perfectionnent et les dosages se multiplient. Ceux-ci sont entrés dans la pratique médico-légale il y a quelque 50 ans avec les travaux de NICLOUX¹. Depuis, les procédés se sont améliorés et l'on peut affirmer que de nos jours ils présentent une quasi-sécurité pour autant que les dosages soient exécutés avec soin et par des personnes compétentes.

¹ C. R. Soc. Biol. XLVIII (1896) 841, XLI (1904) 476. Bull. Soc. Chim. Biol. 13 (1931) 837.

Nous allons procéder à un rapide examen des principales méthodes actuellement en usage, en commençant par celles basées sur l'emploi du *bichromate de potassium*. Elles sont précédées d'une distillation avec réfrigérant d'étain (fig. 1) au cours de laquelle on sépare l'alcool de la plupart des autres substances contenues dans le sang et qui pourraient gêner la détermination. L'alcool renfermé dans le distillat est oxydé en acide acétique par une solution titrée de bichromate, le chrome passe de la valence VI (chromate jaune) à la valence III (vert) selon l'équation :



Cette réaction est plus ou moins stœchiométrique selon les conditions, il se forme parfois de l'aldéhyde acétique. En milieu acide fort, elle est rapide.

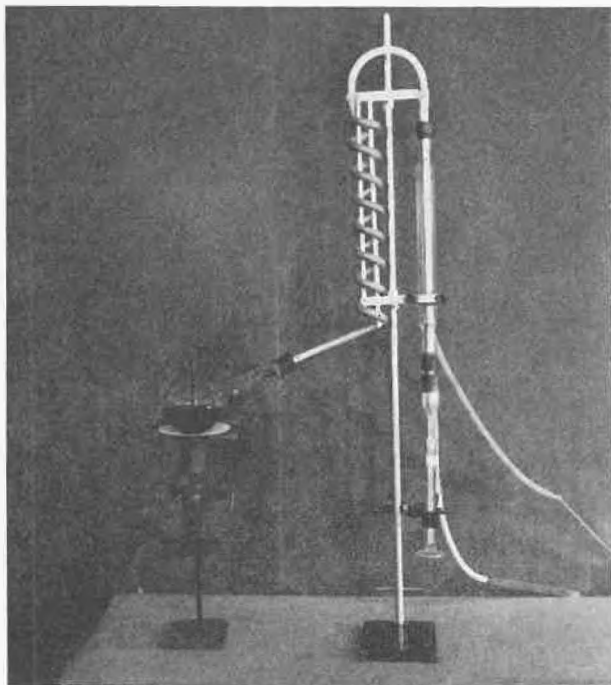


Fig. 1. Réfrigérant d'étain

Diverses méthodes basées sur ce phénomène d'oxydo-réduction ont été établies, nous allons en donner une brève description.

1. Méthode de Nicloux²

Méthode volumétrique qui consiste à oxyder, en milieu fortement sulfurique, la solution d'alcool, à l'ébullition, par une solution titrée de bichromate. La fin de la réaction est indiquée par un changement de couleur de la solution qui passe du vert (Cr^{+++}) au jaune vert. Cette dernière teinte est due à la présence d'un très léger excès de bichromate. Le virage n'est pas net et peut être la cause d'importantes erreurs.

2. Méthode Rochat³

Méthode volumétrique également. Pour obtenir un point final exact, on introduit dans la solution l'alcool fortement sulfurique, un excès de bichromate qui est détruit par un excès de fer ferreux. Enfin, on détermine le fer ferreux en excès par une solution titrée de permanganate. C'est une excellente méthode, précise et rapide, et les conditions dans lesquelles on travaille lui confèrent une certaine sélectivité.

3. Méthode spectrophotométrique⁴

Cette méthode, mise au point dans nos laboratoires, consiste à introduire, comme dans la méthode ROCHAT, un excès de bichromate et de déterminer cet excès par

spectrophotométrie dans l'ultraviolet proche. Nous effectuons l'oxydation en milieu nitrique, ce qui augmente la sélectivité de la méthode. Pour un dosage rapide, une courbe d'étalonnage pourrait être établie. Afin d'augmenter la sécurité du procédé, nous recommandons le mode opératoire suivant :

Trois tubes renferment :

Le premier 1 cm³ de réactif (solution de bichromate à environ 8,8 g par litre d'acide nitrique concentré),

2 cm³ d'acide nitrique concentré,

5 cm³ d'eau distillée.

Le deuxième est identique au premier, sauf que l'eau distillée est remplacée par 5 cm³ d'une solution étalon l'alcool correspondant par exemple à une concentration de 1^{0/00} en poids.

Le troisième tube renferme 5 cm³ du distillat alcoolique dont on fait l'analyse, 1, 2 ou 3 cm³ de réactif selon la concentration d'alcool. 2, 1 ou 0 cm³ d'acide nitrique selon qu'on a ajouté 1, 2 ou 3 cm³ de réactif.

La densité optique de chaque solution est mesurée à la longueur d'onde 366 m μ (ultraviolet proche). Soit D_0 , D_1 et D_x ces valeurs, la quantité inconnue d'alcool ($x^{0/00}$) est donnée par l'expression :

$$x^{0/00} = \frac{n \cdot (D_0 - D_x)}{D_0 - D_1}$$

n étant le nombre de cm³ de réactif introduit dans le 3^e tube.

En procédant de cette façon, on élimine les erreurs pouvant provenir de l'appareillage et des solutions. Cette méthode est relativement sélective car le mélange nitrochromique n'oxyde pas l'acétone.

En pratique, on choisira pour le réactif une concentration de bichromate telle qu'on obtienne une précision maximum dans la région considérée par la police locale comme limite autorisée (à Genève, elle est de 1^{0/00}). Dans ces conditions, l'erreur est de 2% au maximum. Si on trouve 1^{0/00} d'alcool par exemple, la vraie valeur sera comprise entre 0,98 et 1,02^{0/00}.

4. Méthode polarographique⁵

Cette méthode est identique à la précédente, mais l'excès de bichromate est déterminé au polarographe. Rappelons en quelques mots le principe de cette méthode :

La polarographie est une micro-électrolyse. Le dosage s'effectue au moyen d'un appareillage constitué essentiellement d'une cuve au fond de laquelle se trouve du mercure jouant le rôle de pôle positif, c'est-à-dire d'anode (on peut aussi utiliser une électrode de référence). La cathode est constituée de gouttes de mercure se formant à l'extrémité d'un tube capillaire très fin, à la cadence de 15 à 30 minute (l'électrode est donc constamment renouvelée). Le diamètre de la goutte est de 0,3 mm environ, celui du tube capillaire de 0,03 mm. L'intensité qui traverse cette cuve électrolytique est de l'ordre des microampères (10^{-6} ampères).

Appliquons à cette cuve, renfermant par exemple une solution de bichromate de potassium, une force électromotrice variable, de 0 à -2 volts, au moyen d'un potentiomètre (fig. 2) et relevons, pour chaque potentiel,

⁵ MONNIER et RUEDI, *Helv. Chim. Acta XXXIX*, 7 (1956) 1865.

² *Ann. Méd. Leg.* XVI (1936) 113.

³ *Helv. Chim. Acta XXIX* (1946) 102, 819.

⁴ MONNIER et FASEL, *Mitt. Lebensm. Hyg.* 47 (1956) 141.

l'intensité correspondante (sur le galvanomètre *G*). En portant en abscisses le potentiel et en ordonnées l'intensité, on obtient une courbe potentiel-courant (fig. 3).

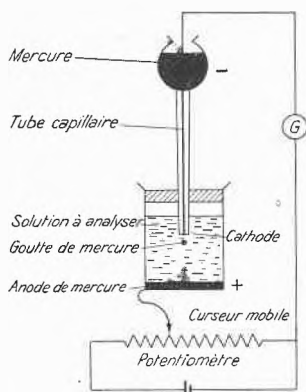


Fig. 2. Potentiomètre

On peut montrer que la hauteur du saut est proportionnelle à la quantité de bichromate en solution. Pour éviter les erreurs d'appareillage et celles dues aux solutions, nous procédons de la façon suivante :

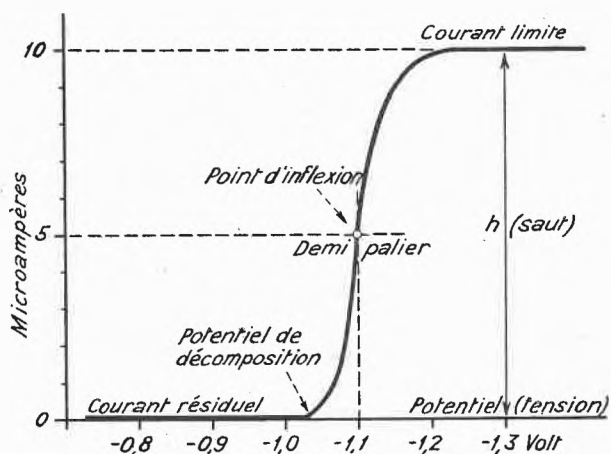


Fig. 3. Courbe potentiel-courant

Soit h_0 la hauteur de la vague provenant d'une solution de bichromate déterminée (fig. 4); soit h_1 celle provoquée par la même solution, mais après y avoir ajouté une quantité connue d'alcool (solution étalon) correspondant par exemple à 1⁰/₀₀ en poids; soit enfin h_x la hauteur polarographique due à une même solution de bichromate à laquelle on a ajouté la solution inconnue provenant du distillat. Le résultat est donné en ⁰/₀₀ par l'expression

$$x \text{ } ^0\text{/}_{00} = \frac{h_0 - h_x}{h_0 - h_1} \cdot d.$$

En effet, $h_0 - h_1$ est proportionnel à la quantité d'alcool renfermée dans la solution étalon et $h_0 - h_x$ à la quantité d'alcool renfermée dans le sang. d est la teneur en ⁰/₀₀ de la solution étalon.

Les conditions d'oxydation, identiques à celles de la méthode spectrophotométrique (mélange nitro-chromique), font que l'acétone même en grandes quantités ne gêne pas le dosage.

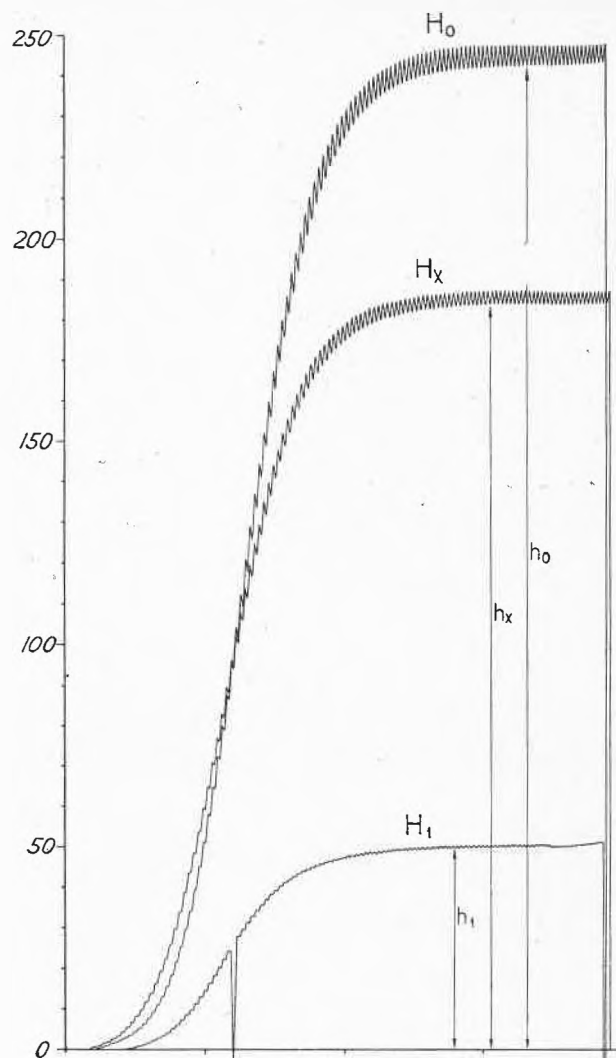


Fig. 4. Courbes polarographiques

Parmi les méthodes de dosage de l'alcool dans le sang qui ne sont pas basées sur l'emploi du bichromate, nous en décrivons deux parmi les plus importantes :

5. Méthode de Schifferli⁶

Cette méthode, de très bonne sélectivité, est quelque peu délicate. Par contre, elle n'exige pas de distillation préalable.

On entraîne l'alcool du sang (fig. 5) par un courant d'azote soigneusement purifié et on fait passer ces va-

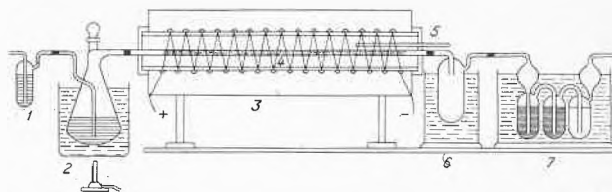


Fig. 5. Appareil SCHIFFERLI

⁶ SCHIFFERLI, *Praxis* 22 (1949) et 34 (1951).

peurs sur un catalyseur (acide pyrophosphorique) chauffé à 280° (3). L'alcool se transforme quantitativement en éthylène, que l'on reçoit dans une solution titrée de brome (7). Ce dernier se fixe sur l'éthylène en donnant le bromure d'éthylène. On dose alors le brome en excès par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

La précision est de l'ordre de 5%.

6. Méthode enzymatique ou méthode ADH⁷

Cette méthode repose sur le fait que l'enzyme désignée sous le nom d'alcool déshydrogénase ADH, catalyse la réaction d'oxydation de l'alcool éthylique (en aldéhyde) par le nucléotide diphosphopyridinique (DPN) selon l'équation :



Cette réaction se fait en milieu tamponné à pH 8,7. Or, il se trouve que le DPN-H absorbe les rayons ultra-violetes de longueur d'onde 340 mμ, alors que le DPN est transparent dans ces conditions. On peut donc déterminer la quantité d'alcool en mesurant, au spectrophotomètre, la quantité de DPN-H formée.

Cette méthode est fort élégante, relativement spécifique, malheureusement elle est délicate par le fait que l'ADH est peu stable et doit être conservé au froid. Même dans ces conditions, au bout de quelques semaines, il doit être renouvelé. De plus, cette substance est sensible aux impuretés atmosphériques. Néanmoins, elle

peut rendre d'importants services dans les laboratoires où l'on fait un grand nombre de ces dosages, car elle est rapide et se prête bien aux analyses en séries.

7. Breathalyzer

Depuis quelques années, on a recherché un moyen rapide permettant de doser l'alcool dans l'haleine, afin d'éviter, lorsque c'est possible, les prélèvements de sang que beaucoup de personnes refusent du reste, invoquant l'intégrité corporelle.

Un premier appareil avait été proposé, sous le nom d'éthylomètre de HARGUER. Fort ingénieux, mais insuffisamment étudié, de manipulation délicate, non thermostaté, il ne donnait pas de résultats suffisamment précis, aussi fut-il abandonné sous sa forme première.

Un nouvel appareil fut lancé, il y a quelque temps, sur le marché, sous le nom de « Breathalyzer » (fig. 6 et 7). Mis au point par le Lieutenant BORKENSTEIN, de l'état d'Indiana, cet appareil est fort bien conçu et réalisé avec un soin particulier. Nous allons en donner une description aussi complète que possible, car, à notre connaissance, rien n'a paru à ce sujet en Europe et que Genève est la première ville de ce continent à l'avoir étudié et utilisé.

Cet appareil est une sorte de colorimètre à cellules photoélectriques et le dosage est basé sur un principe

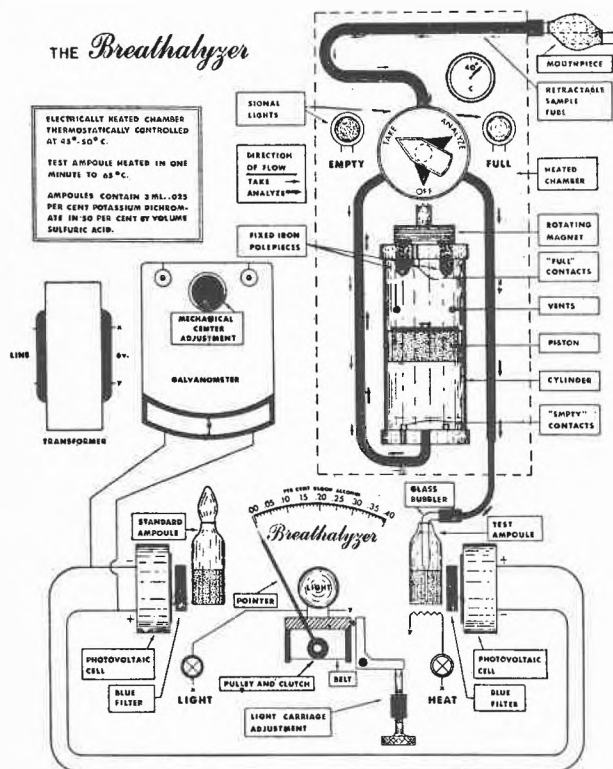


Fig. 6. Schéma du « Breathalyzer »

⁷ BÜCHER et REDETZKI, *Klin. Wschr.* 29 (1951) 615.

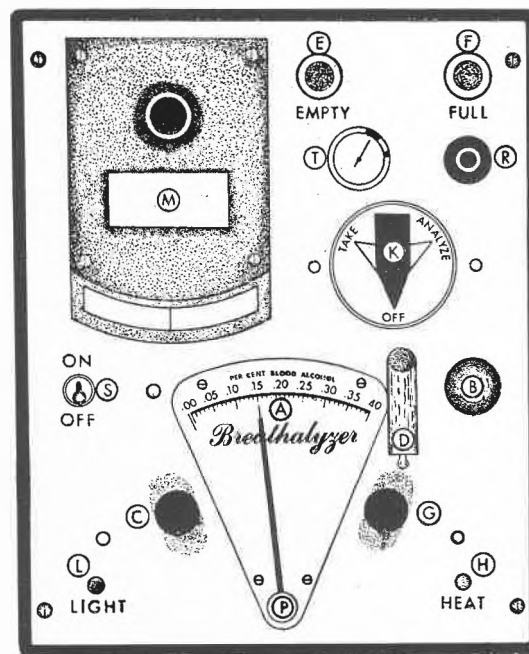


Fig. 7. Schéma du « Breathalyzer » (vu de dessus)

A Echelle : % alcool dans le sang. B Bouton permettant de déplacer la source lumineuse. C Ampoule étalon. E Signal lumineux vert s'allumant lorsque le cylindre est rempli. F Signal lumineux rouge s'allumant lorsque le cylindre est vide. G Ampoule test. H Bouton de chauffage. K Bouton de commande. L Interrupteur de la source lumineuse. M Galvanomètre de O. P Bouton de mise en service de l'appareil. S Bouton de mise en service de l'appareil. T Thermomètre.

identique à celui de la méthode spectrophotométrique décrite plus haut. On évalue la décoloration que subit une solution de bichromate lors du passage d'un volume connu et constant d'haleine. Il a été montré par de nombreux travaux qu'il y a proportionnalité pour un individu entre la quantité d'alcool dans le sang et celle dans l'haleine (2100 cm³ d'air alvéolaire renferment la même quantité d'alcool que 1 cm³ de sang).

Deux cellules photoélectriques reçoivent d'une même lampe (*Light*, fig. 6) placée entre elles, des rayons lumineux. Il en résulte deux courants électriques qui sont mis en opposition de telle sorte que lorsque la source lumineuse se trouve à égale distance des cellules, le galvanomètre ne marque aucun courant. Plaçons maintenant sur le trajet des rayons lumineux, de chaque côté de la lampe un filtre bleu ($\lambda = 440 \text{ m}\mu$) et une ampoule renfermant 3 cm³ de bichromate à 0,025%. Le galvanomètre reste à zéro puisque chaque cellule reçoit toujours la même quantité de lumière.

Lorsqu'il s'agit de faire un dosage, on procède de la façon suivante: Le bouton *S* (fig. 7) est placé sur «*off*», le signal rouge *E* s'allume. Il faut attendre 15 à 20 minutes pour que l'appareil thermostaté atteigne la température de 45 à 50° (contrôlée par le thermomètre *T*). On allume la lampe en poussant le bouton *L* et on déplace celle-ci par le bouton *B* jusqu'à ce que le galvanomètre ne marque plus de courant. Le bouton *K* jusqu'alors sur «*off*» est placé sur «*take*» et le prélèvement peut se faire. Le prévenu souffle à travers une embouchure en plastique *R*. Le signal rouge *E* s'éteint, alors que le signal vert *F* apparaît, indiquant que le cylindre est rempli. La personne continue encore à souffler pendant 3 à 4 secondes, l'haleine continue à passer à travers le cylindre et s'échappe par deux petits orifices qui sont libérés lorsque le piston atteint la fin de sa course. Lorsqu'on arrête de souffler, le piston redescend de quelques millimètres et vient boucher les deux petits orifices. Il est maintenu dans cette position par un électro-aimant. Nous avons donc prélevé une quantité d'haleine de 47 cm³ (volume du cylindre) à 45°, dans laquelle nous allons doser l'alcool. Pour ce faire, nous tournons le bouton *K* sur «*analyze*». On supprime ainsi l'effet de l'électro-aimant et on met en rapport le cylindre avec le tube de bichromate à droite de la figure. Le piston redescend alors par son propre

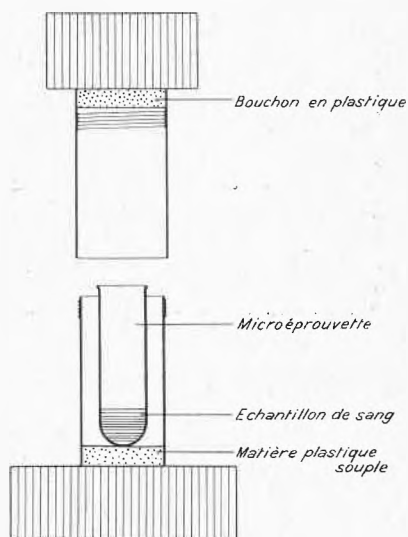


Fig. 8. Micro-dosage, gaine d'aluminium

pois en chassant l'haleine, qui vient barbotter dans l'ampoule renfermant le bichromate (cette dernière est chauffée par une petite résistance additionnelle à 65° pour augmenter la vitesse d'oxydation). Après 40 secondes environ, le signal rouge s'allume indiquant que le cylindre est vide. Il s'agit maintenant d'évaluer la décoloration subie par le bichromate. On la compare à celle, constante, de l'ampoule de gauche (tube étalon). Le galvanomètre, après le passage de l'haleine, n'est plus au zéro, car la cellule de droite reçoit plus de lumière que celle de gauche. Au moyen du bouton *B*, on rapproche la lampe de l'ampoule étalon, afin de rétablir l'égalité d'intensité lumineuse sur les cellules, ce qui se marque par un retour au zéro de l'aiguille du galvanomètre. Par un dispositif mécanique ingénieux, le déplacement de la lampe provoque la rotation d'une aiguille qui se déplace sur un cadran directement gradué en ‰ d'alcool dans le sang. Toute l'opération dure 5 minutes. Les valeurs obtenues sont entachées d'une erreur maximum de 10%, ce qui est remarquable pour une méthode aussi rapide.

Ajoutons que l'appareil peut être alimenté, soit par le secteur (125 à 250 volts), soit par une batterie d'accus (6 ou 12 volts).

Organisation du service de dosage à Genève

Ce service a été confié, dès janvier 1955, aux laboratoires de chimie minérale et analytique de l'Université de Genève. Depuis juillet 1956, il est procédé comme suit :

La personne, dont il s'agit de contrôler le degré d'éthylisme, est priée de souffler dans le «*Breathalyser*». Si ce dernier décèle une teneur dépassant 1‰ d'alcool, l'agent de la circulation demande instamment au prévenu de se rendre à la policlinique et de se prêter à une prise de sang dans la veine, afin que les résultats du «*Breathalyser*» soient contrôlés au laboratoire par deux méthodes : méthode ROCHAT et méthode spectrophotométrique ou polarographique. En cas de refus, on considère que la personne en cause a confiance dans l'appareil et en accepte le résultat.

L'état-major de la brigade de la circulation de Genève s'est déclarée extrêmement satisfaite de cette nouvelle organisation. Le nombre des contrôles a plus que doublé depuis l'emploi de cet appareil. Beaucoup de personnes, ayant un taux d'alcool dans le sang de 1 à 1,5‰ et de ce fait particulièrement dangereuses, échappaient à tout contrôle, car l'agent hésitait à ordonner une prise de sang lorsque l'ivresse n'était pas apparente. On ne peut, si l'on est de bonne foi, refuser de souffler dans le «*Breathalyser*».

Un micro-dosage de l'alcool dans le sang⁸

La prise de sang dans la veine est une opération qui ne présente aucun danger. Pourtant certaines personnes sensibles la craignent, d'autres la trouvent fort désagréable. C'est pourquoi nous avons mis au point une nouvelle méthode qui permet d'effectuer l'analyse sur quelques gouttes de sang (4 à 5) avec une précision de 5%. La distillation ordinaire n'est pas possible pour des quantités si petites. Nous avons donc mis au point une micro-diffusion, qui permet, en une même opération,

⁸ RUEDI et MONNIER, *Helv. Medica Acta* (sous presse).

de séparer l'alcool du sang et d'oxyder cet alcool au moyen du bichromate de potassium. La prise de sang se fait à l'extrémité du doigt. On effectue une incision au moyen d'une lancette et on laisse tomber 4 à 5 gouttes dans une micro-éprouvette renfermant un peu de fluorure de sodium pour éviter la coagulation. Cette micro-éprouvette est enfermée dans une gaine d'aluminium ou de plastique (fig. 8). Pour le dosage, on prélève au moyen d'une micro-pipette 0,1 cm³ de sang, qu'on introduit dans le compartiment extérieur d'une cuve à double

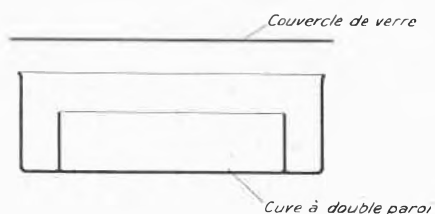


Fig. 9. Micro-dosage, cuve

paroi (fig. 9). On y ajoute du carbonate de potassium, qui favorise la séparation sang-alcool. Le compartiment intérieur reçoit une quantité mesurée d'une solution de bichromate de potassium, puis on place la cuve fermée hermétiquement par une plaque de verre, dans une étuve à 50°. Au bout de 3 heures, l'alcool a passé quantitativement du sang dans la solution de bichromate, dont on dose l'excès par méthode spectrophotométrique ou polarographique. Parallèlement, on fait un dosage identique d'une solution étalon d'alcool.

Les travaux de HARGUER, FORNEY et BAKER ont montré qu'après 70 minutes, les teneurs en alcool du sang veineux et du sang capillaire sont identiques.

Cette micro-méthode sera mise en application dans notre service au début de l'année 1957. A partir de cette époque, il ne serait plus effectué de prélèvements dans la veine, sauf dans des cas particuliers.

Genève, le 23 novembre 1956