

ACTION *IN VITRO* DES RADIATIONS ULTRA-VIOLETTES SUR LE SABLE HYDATIQUE

Par F. COUTELEN

Dans un travail antérieur portant sur l'essai de culture *in vitro* de scolex et d'hydatides échinococciques et paru en 1927 dans les *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, nous avons eu déjà l'occasion d'étudier l'influence de la température et de la lumière sur le sable hydatique ; nous avons enregistré comme températures limites, compatibles avec la vie des scolex *in vitro*, les températures de -4° et de $+44^{\circ}$. Depuis cette époque, il nous est arrivé plusieurs fois de conserver des scolex vivants pendant plus d'un mois, en plaçant les tubes de culture à la glacière, à $+4^{\circ}$. C'est là d'ailleurs un procédé commode pour garder vivants, un long temps, des scolex provenant d'hydatides infectées avant la ponction ; on peut de même garder plusieurs jours, vivants et en bon état, des kystes entiers, en plaçant à la glacière, le plus tôt possible après l'abattage, les foies ou les poumons des animaux parasités.

Les capsules proligères conservent leur vitalité dans les mêmes limites de température.

Au cours de ce travail, nous avons aussi constaté que la lumière puissante d'une lampe de 600 bougies, refroidie convenablement par un ventilateur électrique, n'avait qu'une influence excitatrice sur les scolex échinococciques : en résumé, nous avons noté que l'action des radiations calorifiques et lumineuses sur le sable hydatique est, toutes proportions gardées, relativement faible.

Depuis 1922, Dévé, seul ou en collaboration avec Billiard et Decoularé-Delafontaine, a étudié l'action des rayons X sur le sable hydatique ; il a mis en évidence la grande résistance des scolex échinococciques et des capsules proligères à ces radiations ; en établissant, en 1925, que les éléments hydatiques sont capables de résister à un rayonnement de 20.000 unités R (dose que l'on ne peut administrer en thérapeutique avec nos moyens actuels), il a démontré expérimentalement l'impossibilité de stériliser les porteurs de kystes hydatiques, par des applications de radiothérapie pénétrante. Cette démonstration expérimentale est en contradiction formelle avec les résultats thérapeutiques annoncés par certains auteurs.

Il nous a paru intéressant de continuer cette étude de l'action des agents physiques sur le sable hydatique, en recherchant, cette fois, sa sensibilité aux radiations ultra-violettes. On connaît déjà les pouvoirs abiotiques puissants de ces rayons sur un grand nombre de micro-organismes. Cette étude confirme la grande résistance de la forme larvaire du ténia échinocoque aux divers rayonnements. Elle met en outre en évidence la résistance particulièrement remarquable des scolex échinococciques aux U.-V. par rapport à la sensibilité, antérieurement étudiée, d'autres micro-organismes unicellulaires et pluricellulaires, de même taille ou beaucoup plus grands.

Un grand nombre d'études expérimentales ont été entreprises, jusqu'à ce jour, pour rechercher l'action destructrice des rayons ultra-violettes sur les êtres vivants. Ces radiations, étendues sur cinq octaves, ont des longueurs d'ondes qui varient de 3.920 \AA à 1.200 \AA . Ce sont les rayons de longueurs d'ondes comprises entre 2.000 \AA et 1.200 \AA qui sont abiotiques.

La plupart du temps, les rayons U.-V. employés dans ces recherches physiologiques, ont été obtenus en utilisant des lampes à arc à charbons ou à vapeur de mercure. Or, le rayonnement de ces appareils contient non seulement des rayons ultra-violettes, mais aussi des rayons lumineux et infra-rouges. D'autre part, l'énergie radiante absorbée par un être vivant est fonction, pour un même appareil, de l'intensité du courant qui l'alimente, de la durée d'exposition aux rayons et de la distance de l'objet étudié à la source radiante. C'est dire combien les temps d'exposition utiles peuvent différer, en valeur absolue, suivant les auteurs ; mais, toutes proportions gardées, ils sont encore relativement comparables. Dans l'impossibilité actuelle où l'on se trouve d'utiliser un rayonnement ultra-violet pur, ou d'avoir un monochromateur fournissant une quantité d'énergie suffisante, il est indispensable de mentionner très exactement, pour chaque expérience, le matériel dont on a fait usage et les conditions dans lesquelles il a été employé. Les temps d'exposition aux U.-V., émis par des brûleurs à vapeur de mercure, nécessaires pour tuer les divers microorganismes étudiés jusqu'ici, varient dans d'assez faibles proportions : de quelques secondes à quelques minutes.

Voici quelques exemples à titre de comparaison (1).

(1) Pour de plus amples détails sur cette question, nous renvoyons à la bibliographie donnée par J. Saidman dans son ouvrage *Les rayons ultra-violettes en thérapeutique* édité par Gaston Doin et C^{ie}, Paris, 1928.

Avec un brûleur à vapeur de mercure, consommant 66 volts et 3,5 ampères, Recklinghausen d'une part, Henri et Cernovodeanu d'autre part, ont montré qu'il fallait les temps moyens suivants, pour tuer diverses bactéries placées à 20 centimètres du foyer d'émission.

5-10 secondes	pour tuer le staphylocoque.
15	— — le vibrion cholérique.
18-19	— — les bacilles d'Eberth, coli et dysentériques.
22	— — le bacille du charbon, le pneumo-bacille de Friedlander.
40	— — le bacille du tétanos.
45	— — le bacillus subtilis, le megatherium.
1 minute	pour tuer le bacille tuberculeux.

Avec un appareil semblable, Feuer et Tanner ont tué, en moins d'une minute d'irradiation, 23 espèces de champignons ; 5 espèces ont dû être irradiées plus d'une minute ; parmi celles-ci figurent *Mycoderma rugosa* et *Schizosaccharomyces pombe*. Les plus résistantes furent *Saccharomyces ellipsoideus* et *S. marxianus*, avec 7 minutes, et la *Torula monosa*, avec 10 minutes d'exposition.

Cernovodeanu et Henri ont montré la grande sensibilité aux U.-V. de *Treponema pallidum*, des spirilles de l'eau, de certains Rhizopodes (amibes des infusions de foin ou en culture pure-mixte), de Flagellés, tels que *Trypanosoma evansi*. De même, Porcelli-Titone a étudié l'action abiotique des U.-V. sur les *Leishmania*, Bordier et Horand sur les trypanosomes. D'après ces derniers auteurs, le *Trypanosoma lewisi* est tué en 15 secondes et la dose mortelle d'énergie radiante est alors égale à 0,7 unités. A noter, par contre, la curieuse résistance offerte par ce flagellé aux rayons X, qu'une forte dose, égale à 15 unités I, n'arrive pas à tuer.

Hertel tue de gros infusoires tels que les Paramécies et le Stentor polymorphe avec des temps d'irradiation variant de 60 à 80 secondes. D'après Lyman, il suffit de 2 à 3 secondes d'exposition pour tuer des *Colpoda* et des *Sphærella*.

Henri et ses collaborateurs, d'une part, Kerr-Russel, d'autre part, ont établi l'action abiotique rapide des U.-V. sur de petits crustacés copépodes tels que les Cyclopes (le Cyclope quadricorne, en particulier) ; enfin Eckstein, étudiant l'action des radiations ultra-violettes sur des mammifères nouveau-nés, a pu tuer de jeunes rats, après des irradiations variant de 30 minutes à 1 h. 1/2, suivant les portées.

Nos propres expériences ont été réalisées en utilisant une lampe

à vapeur de mercure de la « Verrerie scientifique », appareil n° 200 B, alimenté par un courant de 120 volts et de 2,5 ampères. Elles ont porté sur le contenu de quatre kystes hydatiques du foie d'un mouton et d'un porc. Le sable hydatique de ces kystes, fraîchement recueilli par ponction aseptique, a été réparti séparément dans huit petites boîtes de Pétri, chaque groupe de deux boîtes contenant le sable hydatique d'un seul kyste. Le verre ordinaire étant imperméable aux radiations ultra-violettes, ces petites boîtes de Pétri, de 4 cm. de diamètre, ont été choisies en quartz transparent (1).

Quatre boîtes, contenant du sable hydatique des quatre kystes, ont été placées à une distance de 20 cm. de la source de rayonnement ; le sable hydatique, uniformément réparti sur le fond des boîtes, n'était recouvert que par une mince épaisseur de liquide hydatique, d'un demi-millimètre environ. Pour éviter l'échauffement progressif des boîtes, une large cupule de quartz, contenant une mince couche d'eau froide renouvelée, avait été interposée entre elles et le brûleur. Un thermomètre, placé au niveau des boîtes, a constamment marqué une température inférieure à 37°.

Les quatre dernières boîtes, contenant également chacune du sable hydatique des quatre kystes, ont été placées à côté des premières, mais protégées contre le rayonnement U.-V. par un écran approprié. Elles nous ont servi de témoins. Le sable hydatique irradié, prélevé régulièrement à la pipette, a été examiné systématiquement entre lame et lamelle, après les temps d'exposition ci-après : 30 sec., 1 min., 2 min., 3 min., 5 min., 10 min., 15 min., 20 min., 30 min., 45 min., 1 h., 1 h. 15 min., 1 h. 30 min., 1 h. 45 min., 2 h., 2 h. 15 min.

Nous avons alors constaté les faits suivants : au bout d'une minute environ, et durant la première heure d'irradiation, les scolex échinococciques ont présenté un phénomène d'excitation marqué, se traduisant par des évaginations, des invaginations successives et des contractions rapides, entraînant le plus souvent la rupture et le retournement des capsules proligères que les diverses manipulations antérieures avaient pu laisser intactes.

De la première à la deuxième heure, les phénomènes d'excitation se sont ralentis, mais tous les scolex irradiés sont demeurés vivants et mobiles.

(1) Cet appareillage nous a été obligeamment prêté par M. P. Rode, chef des Travaux de Zoologie à l'Institut de Recherches Agronomiques de Versailles. La lampe à vapeur de mercure a été mise au point par M. Cl. Fromageot, chef des Travaux de Chimie physique de cet Institut. Je tiens à les remercier tous deux pour leur aimable collaboration.

A partir de la 2^e heure d'irradiation, certains scolex ont commencé à s'immobiliser et à s'éclaircir, puis à se lyser.

Ce n'est qu'au bout de 2 h. 1/4 d'irradiation que nous avons pu constater la mort de tous les scolex dans les quatre boîtes irradiées; nous n'avons noté aucune différence appréciable dans la marche du phénomène, suivant qu'il s'agissait du sable hydatique de tel ou tel kyste étudié. C'est là une résistance considérable à l'action abiotique des U.-V., dépassant notablement celle que l'on a coutume d'enregistrer, pour des micro-organismes pluricellulaires de même taille ou sensiblement plus gros.

Notons à titre de comparaison que Rode, employant le même appareil et se plaçant strictement dans les mêmes conditions expérimentales, a pu tuer des cultures de *Bacillus typhi murium* en moins d'une minute.

Le sable hydatique, contenu dans les quatre boîtes de quartz témoins, était en excellent état et parfaitement vivant, au bout des 2 heures 1/4 d'expérience. Ajoutons que nous avons inoculé au lapin du sable hydatique irradié pendant une heure, pour rechercher si les scolex échinococciques sont encore capables de se transformer en hydatides échinococciques après l'action prolongée des rayons ultra-violetts. Le résultat de cette expérience sera publié ultérieurement. Cette étude de l'action *in vitro* des radiations ultra-violettes sur le sable hydatique, contribue à mettre en évidence la résistance considérable qu'offrent les scolex échinococciques aux agents physiques. Quoique les U.-V., trop peu pénétrants et entièrement absorbés par la peau, ne puissent entrer directement en jeu dans l'important problème du traitement de l'échinococcose, cette étude de leur action, s'ajoutant à l'étude des actions déjà connues des autres rayonnements, tend à démontrer l'inefficacité d'essais physiothérapeutiques de cette affection.

RÉSUMÉ

1° Les radiations ultra-violettes ont une action excitatrice marquée sur les scolex échinococciques, pendant la première heure d'irradiation *in vitro*.

2° Il ne faut pas moins de 2 heures 1/4 d'exposition aux rayons ultra-violetts, pour tuer, *in vitro*, le sable hydatique.

3° La résistance, *in vitro*, des scolex échinococciques à l'action abiotique des radiations ultra-violettes, paraît dépasser de beaucoup la résistance des organismes, de taille égale ou beaucoup plus grande, étudiés jusqu'à ce jour.

BIBLIOGRAPHIE

- ARCE (J.) et IVANISSEVICH. — Action destructive des rayons X sur les scolex échinococciques. *Semana medica*, 1924, p. 833 et *Bull. Acad. med.*, 1924, p. 1294.
- BIANCANI (E. et H.). — *Les rayons ultraviolets*. Paris, Gauthier-Villars et Cie, 1928.
- BORDIER (H.) et HORAND (R.). — Action des rayons ultraviolets sur les trypanosomes. *C. R. Acad. sc.*, 1910, p. 634 et 886.
- CERNOVODEANU (Mlle P.) et HENRI (V.). — Etude de l'action des rayons ultraviolets sur les microbes. *C. R. Acad. sc.*, 1910, p. 52.
- Action des rayons ultraviolets sur les microorganismes et sur différentes cellules. Etude micro-chimique. *C. R. Acad. sc.*, 1910, p. 729.
- COUTELEN (F.). — Essai de culture *in vitro* de scolex et d'hydatides échinococciques. *Ann. de Parasit.*, V, 1927, p. 7 à 9.
- DÉVÉ (F.) et BILLARD (A.). — Sable hydatique et radiothérapie. *C. R. Soc. biol.*, LXXXVII, 1922, p. 127.
- et DECOULARE-DELAFONTAINE (A.). — Sable hydatique et radiothérapie pénétrante. *C. R. Soc. biol.*, XCI, 1924, p. 851.
- Sable hydatique et radiothérapie pénétrante. *C. R. Soc. biol.*, XCI, 1924, p. 1365.
- DÉVÉ (F.). — Au sujet de la radiothérapie pénétrante sur les éléments hydatiques. *C. R. Soc. biol.*, XCII, 1925, p. 1184.
- ECKSTEIN. — *Arch. f. Kinderheilkunde*, 1924.
- FEUER (B.) et TANNER (F. W.). — The action of ultraviolet light on the yeast-like fungi. *Journ. ind. a. Eng. Chem.*, XII, 1920, p. 740.
- HENRI-CERNOVODEANU (Mme V.), HENRI (V.) et BARONI (V.). — Action des rayons ultraviolets sur les bacilles tuberculeux et sur la tuberculine. *C. R. Acad. sc.*, 1910, p. 729.
- KERR-RUSSEL. — *Ultraviolet radiation*. Edinbrough, Livingstone, 2^e éd., 1927.
- LYMAN. — Spectroscopy extreme U. V., Londres, 1914 (trad. *L'Ultraviolet*, Paris, Alcan, 1924).
- PORCELLI et TITONE. — *Pediatrics*, Naples, 1916.
- RODE (P.). — Influence des radiations ultraviolettes sur le *Bacillus typhi murium* (virus Danysz). Influence de la dessiccation sur la même bactérie. *Annales des épiphyties*, 1928, p. 39 à 42.
- SAIDMAN (J.). — *Les rayons u'violetts en thérapeutique*. 2^e éd., Paris, Doin, 1928.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris