SUR LA CRISTALLISATION SPONTANÉE « IN VITRO » DE L'OXYHÉMOGLOBINE DU SANG DE PIGEON, INGÉRÉ PAR DES TRIATOMES.

Par F. PICK (*) (**)

On sait qu'il est relativement facile de faire cristalliser l'hémoglobine du sang de certains animaux *in vitro* par l'abaissement de la solubilité de l'hémolysat correspondant.

Dans une note antérieure (1), sur la cristallisation biologique de l'oxyhémoglobine du sang ingéré par des Triatomes, nous avons montré que des conditions physico-chimiques, comparables à celles qui régissent la cristallisation *in vitro*, interviennent aussi dans la cristallisation intestinale des Triatomes, et que l'inclusion du sang ingéré à l'état frais permet la conservation des cristaux donnant à l'examen spectroscopique les bandes d'absorption caractéristiques de l'oxyhémoglobine.

Dans cette note, nous présentons de nouvelles observations montrant la possibilité de faire cristalliser l'oxyhémoglobine d'un sang spontanément *in vitro*, en partant du sang de pigeon qui cristallise d'une manière facile et abondante au niveau de l'intestin moyen des Triatomes.

Les cristaux d'oxyhémoglobine formés au cours de la cristallisation biologique (fig. 1), vus de profil, ont l'aspect d'un trapèze présentant dans l'espace la forme des pentaèdres dont l'axe longitudinal est perpendiculaire à un plan transversal en forme de triangle isocèle. Les surfaces triangulaires limitantes sont inclinées d'une manière bilatérale-symétrique vers l'axe transversal. Les cristaux ont ainsi l'aspect d'un rasoir à tranchant bilatéralement raccourci.

Dans les cas de cristallisations abondantes, on rencontre souvent

(*) Nous tenons à rendre hommage à M. le Professeur R.-V. Talice, Chef du Département de Parasitologie de l'Institut d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Montevideo qui a bien voulu mettre à notre disposition le matériel nécessaire à nos recherches.

(**) Nous remercions particulièrement M. J. Radice et Mlle M. Lastretti, du Service phototechnique de cet Institut, pour le bon travail photomicrographique.

des cristaux qui semblent accolés dos-à-dos ou peut-être issus des centres jumelés de cristallisation, formant alors des hexaèdres.

La couleur des cristaux dépend de leur taille et de leur épaisseur ; petits et minces, ils peuvent apparaître transparents, mais, en fonction de leur croissance, ils adoptent les nuances de la gamme du rouge, allant du rose tendre jusqu'au rouge brique, en analogie avec des couches de sang augmentant leur épaisseur.

FIG. 1. — Sang de pigeon ingéré par *T. infestans*. Préparation à l'état frais entre lame et lamelle complètement lutée.

Cristaux pentaèdres donnant au profil une configuration trapézoïde. Au milieu de la préparation, deux cristaux accolés dos à dos ou issus des centres jumelés de cristallisation, donnant ainsi la forme d'un hexaèdre. L'axe longitudinal de ce double cristal est de 1 mm. — Document original.

La cristallisation biologique au niveau de l'intestin moyen des Triatomes, se produisant en étapes successives, conduit à la coexistence de cristaux de taille très différente, mais toujours analogues en ce qui concerne la configuration cristallographique.

La croissance des cristaux est limitée par le stade d'évolution des Triatomes. L'espace donné par l'extension maxima de l'intestin moyen limite d'une manière absolue la croissance des cristaux. Il s'y ajoute, comme facteur restrictif, le péristaltisme continu de l'intestin moyen. C'est ainsi que les plus grands cristaux sont élaborés par des spécimens adultes.

Des essais portant sur le sang des animaux réceptifs à *Trypanosoma cruzi* ont montré que la cristallisation biologique de l'oxyhémoglobine d'un sang ingéré est indépendante d'une infestation éventuelle par ce Trypanosome.

Dans la poursuite de nos recherches sur la cristallisation biologique, nous avons observé, dans quelques préparations complètement lutées, une continuation de la cristallisation de l'oxyhémoglobine du sang prélevé.

FIG. 2. — Cristallisation *in vitro* de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon ingéré par *T. infestans*, après inclusion complète de ce sang à cristallisation biologique abondante. L'extension longitudinale du plus grand des cristaux en forme d'aiguille est de 1,4 mm. On constate, en haut et à gauche, la présence d'un cristal élaboré par le Triatome *in vivo*, et on reconnaît en partie son profil trapézoïde et sa forme pentaèdre. — Document original.

Ces cristaux colorés en rouge ont la forme d'une aiguille, mais, examinés à un fort grossissement, ils révèlent leur configuration trapézoïde (fig. 2).

Il a été évident, d'une part, que l'ensemble des facteurs participant à l'élaboration des cristaux d'oxyhémoglobine a été conservé au moins en quelques endroits de ces préparations, et, d'autre part, que les facteurs mécaniques de l'espace disponible et du repos de la préparation sont entrés en jeu dans la détermination de l'extension de ces cristaux.

La question s'est alors posée de savoir s'il n'était pas possible d'in-

roduire une cristallisation spontanée *in vitro* d'une manière régulière.

Après différentes expériences, nous nous sommes finalement arrêté à l'inclusion temporairement incomplète du sang ayant été ingéré par des Triatomes. Les préparations ont été confectionnées en couche épaisse suffisamment transparente, et abandonnées à la température du laboratoire dans une position horizontale.

FIG. 3. — Cristallisation *in vitro* de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon ingéré par *T. infestans*, après inclusion temporairement incomplète de ce sang avant le début de la cristallisation biologique. Centre de cristallisation donnant naissance à une rosace formée par des cristaux. Le diamètre de la rosace est environ de 4 mm. — Document original.

Dans un premier temps, nous avons prélevé le sang de pigeon ingéré par *Triatoma infestans*, avant le début de la cristallisation biologique de son oxyhémoglobine, au niveau de l'intestin moyen de ces Réduvidés.

Après la conservation de ces préparations pendant trois mois, l'observation nous a révélé la présence d'un réseau enchevêtré sur toute l'étendue de chaque préparation.

Ces réseaux étaient composés par des cristaux en forme de baguettes particulièrement longues, dont le diamètre transversal pouvait atteindre 0,5 mm.

A l'intérieur de la préparation se trouvaient des centres de cristal-

lisation, d'où partaient des cristaux oblongs, formant ainsi des rosaces (fig. 3).

En dehors de ces centres situés à l'intérieur des préparations, nous avons aussi constaté la présence de centres de cristallisation situés aux bords des inclusions. De ces centres périphériques partaient également des cristaux en forme de baguettes, mais arrangés en éventail et d'une longueur particulière. Mesurés dans une préparation, la longueur de ces cristaux atteignait 12 mm.

FIG. 4. — Cristallisation biologique de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon au niveau de l'intestin moyen de *T. infestans*. Le cristal reproduit montre une certaine lyse, mais on peut encore reconnaître sa forme trapézoïde. Observation 24 heures après l'inclusion. — Document original.

Dans une deuxième série d'expériences, nous sommes parti d'un sang de pigeon ayant été ingéré par *T. infestans*, au début de la cristallisation de son oxyhémoglobine.

Dans le cas que nous avons suivi, l'examen de la quantité totale du sang prélevé n'a révélé que la présence de trois cristaux d'oxyhémoglobine.

Le plus grand de ces cristaux a été inclus avec une quantité appropriée de sang ingéré.

L'examen de la préparation, 24 heures plus tard, a montré que le cristal a subi une certaine lyse, mais cette lyse a particulièrement touché la masse sanguine autour du cristal (fig. 4).

Les examens répétés au cours des jours suivants n'ont pas révélé une continuation de la cristallisation *in vitro*.

La préparation (fig. 4) a été alors abandonnée pendant trois semaines.

Après ce temps, un nouvel examen de la préparation a révélé la présence d'une abondante cristallisation *in vitro* (fig. 5).

Comme issus de différents centres périphériques et arrangés en forme d'éventail, des cristaux oblongs étaient orientés vers le milieu de la préparation. Colorés en rouge, mais très transparents,

FIG. 5. — Cristallisation *in vitro* de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon ingéré par *T. infestans* après inclusion temporairement incomplète de ce sang. La préparation a contenu initialement un seul cristal (Fig. 4), provenant de la cristallisation biologique. On constate la présence de centres de cristallisation périphériques d'où sortent des cristaux en forme de baguette, arrangés en éventail. Les cristaux appartiennent au même système que le cristal solitaire formé biologiquement. La longueur maxima des cristaux est dans cette préparation de 4 mm. — Document original.

ces cristaux ont montré une configuration trapézoïde vus de profil et la forme pentaèdre par des examens sur différents plans. La longueur de ces cristaux a pu sensiblement dépasser celles des cristaux de formation biologique, mais leur largeur est restée inférieure, comparée à l'extension possible des cristaux formés *in vivo*.

Les facteurs qui déterminent l'extension atypique des cristaux formés spontanément *in vitro* sont également surtout d'ordre mécanique, mais ils diffèrent des facteurs mécaniques qui interviennent dans la cristallisation de l'oxyhémoglobine au niveau de l'intestin moyen des Triatomes vivants.

L'extension verticale de la couche épaisse de la préparation ne correspond qu'à une fraction du plus petit diamètre disponible à l'intérieur d'un intestin moyen de *Triatoma*, gonflé par la masse sanguine ingérée, surtout quand on pense à un stade évolutif plus avancé de ce Réduvidé.

Mais, l'extension horizontale de la couche épaisse de la préparation couverte toujours, dans nos expériences, avec des lamelles de 18 sur 18 mm., dépasse largement le plus grand diamètre disponible pour la cristallisation biologique de l'oxyhémoglobine, même chez les spécimens adultes de *T. infestans*.

Enfin, c'est le facteur repos qui intervient favorablement dans la cristallisation *in vitro*, par opposition au facteur péristaltisme intestinal qui limite nécessairement la croissance des cristaux au cours de leur formation biologique chez les Triatomés.

Dans une série d'expériences portant sur 20 spécimens différents de *Triatoma infestans*, nourris exclusivement sur pigeon, nous avons constaté la cristallisation spontanée *in vitro* de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon, après prélèvement et inclusion temporairement incomplète de ce sang.

Nous reviendrons ultérieurement sur nos essais portant sur la cristallisation de l'oxyhémoglobine du sang des animaux réceptifs pour *Trypanosoma cruzi*. Ils nous ont révélé que la cristallisation spontanée *in vitro* est indépendante d'une infestation éventuelle des Triatomés, mais qu'elle est spécifique de l'origine du sang ingéré. Il nous a paru, en outre, que l'intérêt particulier de la cristallisation spontanée de l'oxyhémoglobine, d'un sang ayant été ingéré par des Triatomés *in vitro*, réside dans le fait qu'elle peut avoir lieu dans le cas de sangs non ou difficilement cristallisables par voie biologique. Cette constatation augmente, par exemple, sur le plan épidémiologique de la maladie de Chagas, les possibilités de reconnaissance de l'origine d'un sang sans avoir recours aux sérums précipitants.

EN RÉSUMÉ

Nous avons constaté qu'il y a au moins trois conditions possibles de cristallisation de l'oxyhémoglobine du sang de pigeon ayant été ingéré par *Triatoma infestans* :

1° La cristallisation biologique au niveau de l'intestin moyen des Triatomés, conduisant à des formes pentaèdres qui, vues de profil, ont un aspect trapézoïde.

2° La cristallisation continue *in vitro*, qui s'observe dans des préparations complètement lutées, produisant des formes analogues à celles de la cristallisation biologique, mais en nombre restreint et à dimensions disproportionnelles.

3° La cristallisation spontanée *in vitro* dans des préparations à inclusion temporairement incomplète aboutit à la formation abondante de cristaux, analogue à celle de la cristallisation biologique, mais montrant des formes en baguettes oblongues, dépassant en longueur les plus grands cristaux de formation biologique.

BIBLIOGRAPHIE

Pick (F.). — Sur la cristallisation biologique du sang ingéré par des Réduvidés du genre *Triatoma*. *Société de Pathologie exotique*, séance du 9 janvier 1952.