

# Action de systèmes chimiques générateurs de radicaux libres hydroxyles sur *Trichomonas vaginalis* Donné 1836

Par Ph. LATOURELLE et R.-M. NICOLI

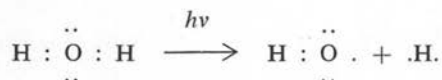
## ETUDE DU SYSTEME CHIMIQUE UTILISE

Les radicaux libres comportent un électron célibataire, ils possèdent donc un nombre impair d'électrons.

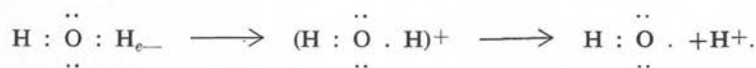
Le radical hydroxyle sera donc un fragment moléculaire, sans charge électrique et possédant un électron non apparié, composé d'un atome d'hydrogène et d'un atome d'oxygène OH.

### 1) MODE DE FORMATION PHYSIQUE DU RADICAL OH.

Les radiations ultra-violettes sont capables, en heurtant un électron de la molécule d'eau, de le délocaliser de son orbitale, et de provoquer la modification électronique :



De même les radiations ionisantes :



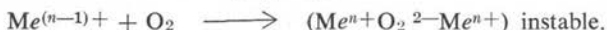
L'électron éjecté sera capté par une autre molécule d'eau pour donner un radical libre OH et un atome libre d'hydrogène.

### 2) MODE DE FORMATION CHIMIQUE DU RADICAL LIBRE HYDROXYLE.

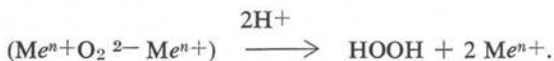
Lorsque l'on fait intervenir des réactions rédox par transfert d'électron entre un ion métallique de la série de transition et une molécule déterminée, il sera possible d'aboutir à la formation de radicaux libres hydroxyle.

— Activation de l'oxygène moléculaire : il y a autoxydation des ions métalliques (1) avec formation de péroxyde d'hydrogène.

Ce mécanisme est ainsi expliqué (2) :



Par collision avec une molécule d'eau :



— Activation du peroxyde d'hydrogène : elle a lieu en présence d'un ion métallique réduit :



C'est l'hypothèse de Fenton (3), reprise ensuite par de nombreux auteurs [Baxendale, Weiss, Cier et Nofre (4)].

Certains ont proposé d'augmenter la vitesse de formation du radical hydroxyle par l'emploi d'une substance réductrice comme l'acide ascorbique.

Les effets catalytiques de la réaction sont ainsi potentialisés par l'acide ascorbique et notamment lorsque le métal utilisé est le cuivre.

— Les inhibiteurs du système : par chélation des ions métalliques (5), il sera possible d'inhiber le système. De même avec l'ajout de substances anti-oxygène. On a pu utiliser ainsi : histidine, glycolle, E.D.T.A., cystéine, etc...

### 3) EFFETS BIOLOGIQUES DES SYSTÈMES CHIMIQUES.

En 1910, Landsteiner et Levaditi (8) mettent en évidence l'action du peroxyde d'hydrogène sur le virus poliomyélitique. Schultz et Robinson (9) classent le peroxyde d'hydrogène parmi les corps ayant une activité valable. En réalité, de nombreux auteurs ont prouvé que seule la présence de traces métalliques permettait, par activation catalytique en radicaux libres hydroxyles, ou peroxyde d'hydrogène, d'avoir une grande activité virulicide et bactéricide (10).

Ainsi, en nous inspirant de ces nombreux travaux, nous avons tenté d'appliquer cette réaction chimique à l'élimination de certains parasites, et notamment de *Trichomonas vaginalis*.

#### RÉACTIFS UTILISÉS.

a) Solution de sulfate de cuivre à 10 micromoles par ml. Cette solution est mise en ampoules scellées.

b) L'acide ascorbique a été utilisé sous forme pulvérulente, car ses solutions ne sont pas stables.

c) Histidine en poudre. 15 micromoles.

#### Matériel biologique et mode opératoire

Nous avons fait agir notre système sur trois souches isolées de trois malades différents. Nous avons utilisé le milieu de Dobell et Laidlaw pour la culture du *T. vagina-*

lis (11). Ce milieu est constitué d'un plan incliné de sérum de cheval coagulé et d'un milieu liquide, mélange de solution de Ringer (six parties) et de sérum de cheval liquide (une partie) avec, en suspension, de l'amidon de riz.

Les souches doivent être maintenues à 37° et les repiquages effectués tous les trois jours. Sur chacune des trois souches, nous avons prélevé 2 ml de la partie liquide du milieu de Dobell et nous l'avons ajustée avec du liquide de Ringer + sérum de cheval, de façon à obtenir une suspension contenant environ 400 protozoaires par mm<sup>3</sup> (hémocytomètre de Malassez).

Dans chacune des suspensions, nous avons ajouté la même quantité d'acide ascorbique (20 micromoles), mais des quantités croissantes de sulfate de cuivre, et nous avons essayé de déterminer la concentration limite active de sulfate de cuivre. La suspension était alors remise à l'étuve à 37° et des mesures étaient faites à plusieurs intervalles de temps. Pour chacune des mesures, nous avons pris comme témoin la même suspension de *T. vaginalis* à 400 éléments par mm<sup>3</sup>.

Concentration en sulfate de cuivre	Série A Suspension seule				Série B Suspension + histidine		
	10 mn	30 mn	1 h	2 h	10 mn	1 h	2 h
5 µm	215	95	22	—	410	360	380
1 µm	207	106	34	4			
0,75 µm	375	130	65	26			
0,50 µm	370	180	96	34			
0,10 µm	380	260	70	115			
0,05 µm	415	350	380	290			
Témoin	410	415	395	415	395	400	385

La suspension témoin montre que la survie de *T. vaginalis* dans le milieu liquide est bonne. L'addition d'histidine, arrêtant les cycles d'oxydation, empêche l'effet toxique de se produire. De même qu'au cours de nos précédents travaux (12 et 13) sur les spores fongiques, le système chimique paraît efficace sur *Trichomonas vaginalis*. Ce système, à des concentrations convenables, permet la stérilisation; son absence de toxicité nous paraît remarquable, la D.L. 50 trente jours pour la souris de l'ion cuivreux étant de 13,8 mg/kg par voie intra-péritonéale.

### Bibliographie

1. UDENFRIEND, CLARK, AXELROD, BRODIE, 1954. — L'acide ascorbique dans l'hydroxylation aromatique *J. Biol. Chem.*, 208, 731.
2. CIER, LEFIER, NOFRE et RANC, 1959. — *Bull. Soc. Chim.*, p. 1253.

3. LENTON, 1894. — *J. Chem. Soc.*, 65, 899.
4. BAXENDALE, 1952. — *Advence in catalys.*, 4, 31.
5. SCHUTZ et KRUSE, 1947, 1948. — *Zentr. Bakt. I. Orig.*, 152, 135/47.
8. LANDSTEINER et LEVADITI, 1910. — *Ann. Inst. Past.*, 24, 833.
9. SCHULTZ et ROBINSON, 1942. — *J. Inf. Dis.*, 70, 193.
10. PELOUX, NOFRE, CIER et COLOBERT, 1962. — *Ann. Inst. Past.*, 102, 6.
11. DARGELOS, 1963. — *Thèse de Pharmacie*, Bordeaux,
12. LATOURELLE et NICOLI, 1964. — *Soc. Pharm. Marseille*, mars.
13. LATOURELLE, 1964. — *Mémoire Méd. d'Or. des Hôpitaux de Marseille*.

*Laboratoire de Parasitologie (Directeur : P<sup>r</sup> J. RANQUE)  
Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Marseille*

---