

## POSSIBILITÉS D'EMPLOI DES AGENTS DE SURFACE AMPHOTÈRES DANS LA LUTTE CONTRE LES AGENTS DE TRANSMISSION DES SCHISTOSOMOSES

C. COMBES\*, J. P. BOITEUX\*\*, M. C. MARCON\*, L. MARCOU\*\* et B. SELLIN\*\*\*

**RÉSUMÉ.** Parmi les substances susceptibles d'être utilisées contre les stades libres des Schistosomes, certains agents de surface, du type bêtaïne, montrent une activité remarquable à des doses faibles (0,1-5 ppm) aussi bien contre les miracidiums que contre les cercaires.

La laurylamidopropylbêtaïne a fait en particulier l'objet d'une série de tests concluants, démontrant une baisse très significative de l'infection des hôtes (mollusques ou souris) par les larves libres ayant été à son contact. D'après plusieurs essais faits au Niger, ce produit possède une rémanence satisfaisante dans les eaux tropicales, malgré la biodégradation et les phénomènes d'absorption aux particules en suspension.

Il est envisagé de l'introduire dans les savons domestiques à la dose de 5 %, ce qui assurerait un renouvellement régulier du produit actif dans certains sites et pourrait réduire fortement la transmission.

### **Potential use of amphoteric surface agents to combat agents of Schistosome transmission.**

**SUMMARY.** Among the chemicals which might be used against the larvae of *Schistosoma*, some surface active substances show some high activity at very low concentrations (0,1-5 ppm) against the miracidiums and the cercariae.

The laurylamidopropylbetain has shown out of a group of products which were tested, a very high activity by lowering considerably the infection by the larvae of the hosts, like molluscs and mice, which were in contact with them.

After a serie of tests made in Nigeria, these products showed a satisfactory remanence in tropical waters, in spite of the biodegradation and the adsorption on the suspended particules.

It was faced to put that betain into soaps at a concentration of 5 % which will permit to renew constantly the active product and which will reduce heavily any infection.

Une lutte efficace contre les schistosomoses nécessite des actions coordonnées faisant appel non seulement aux moyens thérapeutiques mais également à toutes les interventions susceptibles de rompre le cycle de transmission, telles qu'usage de molluscicides ou de produits inhibant les stades larvaires libres. C'est dans cette

\* *Département de Biologie animale, Université, avenue de Villeneuve, F 66025 Perpignan.*

\*\* *Produits Chimiques de la Montagne Noire, F 81105 Castres.*

\*\*\* *C.E.R.M.E.S. (O.C.C.G.E.), Niamey (Niger).*

Accepté le 21 décembre 1982.

optique que la recherche de produits empêchant la pénétration des cercaires peut présenter un intérêt particulier. En 1938, Witenberg et Yofe ont étudié l'action cercaricide de quelques produits et signalé les propriétés intéressantes du chlore et de certains de ses dérivés : chloramine et eau de Javel. Ces travaux ont été confirmés en 1947 par Jones et Brady pour la chloramine et par Fripp et ses collaborateurs en 1972 pour les solutions d'hypochlorite. Frick et Hillyer avaient montré en 1966 que cette action du chlore était fonction du pH du milieu et plus forte en milieu acide.

Jones et Brady, en 1947, ont été les premiers à signaler, à côté de dérivés iodés, que deux agents de surface possédaient des propriétés cercaricides : un alkylarene-sulfonate, constituant classique de la plupart des poudres à laver ménagères, actif en 3 à 5 minutes à 1 gr/l et un chlorure d'ammonium quaternaire, produit germicide, actif à des dilutions de 1/5000 et 1/10000.

Haas et Schmitt (1982) ont étudié l'effet stimulant de certains produits chimiques sur la pénétration transcutanée des cercaires. D'après ces auteurs, les substances qui stimulent la pénétration des cercaires lors de leur contact avec la peau, provoquent aussi leur inhibition lorsqu'elles sont en solution ; ayant étudié 230 produits chimiques, ils ont montré que les produits aliphatiques ayant un groupe polaire terminal sont particulièrement actifs et que, dans le cas de chaînes saturées aliphatiques, le maximum d'activité correspondait aux chaînes contenant 10 à 15 atomes de carbone. Pour les chaînes insaturées, l'activité était repoussée vers un plus grand nombre de carbones. Ils ont également trouvé que la présence de doubles liaisons, de groupes hydrophiles, de groupes méthyle ou d'halogène dans la molécule étaient des facteurs favorables.

Cette description correspond très exactement à la définition d'agents de surface aliphatiques et il est bien connu que la tensio-activité de ces dérivés atteint son maximum pour des chaînes saturées ayant de 12 à 14 carbones.

Combes et Arnaudis (1982) ont étudié l'influence de divers agents de surface sur l'activité et la pénétration des cercaires de *Schistosoma mansoni*. Ils ont montré que les alkybétaines et alkylamidobétaines sont particulièrement actives ; or, il s'agit de molécules qui ont un groupe polaire terminal, une chaîne saturée contenant 12 à 14 atomes de carbone et deux groupes méthyle fixés sur l'azote quaternaire. Bien que les travaux de Haas et Schmitt et ceux de Combes et Arnaudis soient partis d'une problématique différente, il y a donc un parallélisme certain dans leurs résultats.

Nous décrivons dans le présent travail l'état des recherches sur l'activité et l'utilisation possible des bétaines dans le contrôle de la transmission de *S. mansoni*.

## I. — Action inhibitrice des agents de surface du type bétaine sur les cercaires

L'étude des divers agents de surface (Combes et Arnaudis, 1982) a montré que les produits les plus actifs sur les cercaires étaient des amphotères du type bétaine : la laurylbétaine (sel de sodium de la N dodécyl diméthylbétaine) et la laurylamidopropylbétaine (sel de sodium de la N.N. diméthyl N propyl dodecanamide bétaine).

L'action inhibitrice de ces produits vis-à-vis des cercaires est déjà sensible pour une concentration en bêtaïne de 0,1 ppm. La lauryl amidopropylbêtaïne serait légèrement plus active que la laurylbêtaïne. Dès les concentrations de l'ordre de 0,1 à 5 ppm, non seulement les cercaires sont immobilisées, mais l'infestation de souris, placées dans les conditions les plus favorables à la pénétration des cercaires, considérablement diminuée.

## II. — Action inhibitrice des agents de surface du type bêtaïne sur les miracidiums

La première partie de l'étude ayant montré que la laurylamidopropylbêtaïne était l'agent le plus actif vis-à-vis des cercaires, nous avons analysé l'action de ce même produit sur les miracidiums.

Deux techniques expérimentales ont été utilisées, la première permettant de déterminer l'action de ce produit sur la longévité des miracidiums, la seconde son influence sur l'infestation de Mollusques (*Biomphalaria glabrata*).

### A — Action sur la longévité des miracidiums.

Les miracidiums sont obtenus à partir du foie de souris infestées depuis huit semaines par une souche brésilienne de *Schistosoma mansoni* par les techniques courantes du laboratoire.

La technique utilisée pour l'étude de la longévité des miracidiums est identique à celle utilisée par Combes et Arnaudis (1982) pour les cercaires. Les résultats de ces essais sont donnés dans le *tableau I*.

TABLEAU I. — Action inhibitrice de la laurylamidopropylbêtaïne sur les miracidiums.

Concentration en ppm	20	10	5	2	1	0,5	0,1
Temps d'inactivation	20''	30''	65''	12'	26'	35'	50'

La comparaison entre ces résultats et ceux qui ont été obtenus avec les cercaires, montre que la laurylamidopropylbêtaïne agit plus rapidement sur les miracidiums.

### B — Action sur l'infestivité des miracidiums.

L'infestation est faite sur des mollusques (*Biomphalaria glabrata* de souche brésilienne) d'environ 6 mm de diamètre. Chaque mollusque est isolé dans un petit récipient de plastique contenant 5 ml d'eau maintenue à 26°C. Les miracidiums sont prélevés un par un à l'aide d'une pipette Pasteur, mis en contact pendant 5 minutes

avec des solutions de concentration variable en laurylamidopropylbétaine, puis mis en présence de mollusques, à raison de 5 miracidiums par récipient. Les mollusques et les miracidiums sont maintenus en contact pendant 12 heures ; les mollusques sont ensuite replacés dans un aquarium rempli d'eau aérée à 26° C. Les essais ont été effectués pour chaque concentration avec 20 mollusques.

Après quarante jours, l'examen des mollusques permet de voir les sporocystes très développés dans la glande digestive des mollusques et de déterminer le nombre de mollusques infestés.

Les résultats obtenus en fonction de la concentration en laurylamidopropylbétaine sont donnés dans le *tableau II*.

TABLEAU II. — Infestation des mollusques par des miracidiums ayant été en contact avec la laurylamidopropylbétaine

Concentration en ppm	Témoin	0,1	0,5	1	2	5
Nombre de Mollusques exposés	20	20	20	20	20	20
Nombre de Mollusques survivants	19	12	14	13	20	20
Nombre de Mollusques infestés	14	10	5	1	1	0

Sous réserve d'essais complémentaires, il ne semble pas abusif de penser que la laurylamidopropylbétaine inhibe l'activité des miracidiums et diminue de façon très nette la pénétration de ceux-ci chez les mollusques. S'il en est ainsi, la présence de ce produit dans l'eau permettrait non seulement d'inhiber les cercaires, mais également les miracidiums et ainsi de réduire la transmission en deux points du cycle.

### III. — Évolution de la concentration en bétaine d'eaux tropicales

La concentration d'une solution de laurylamidopropylbétaine dans une eau naturelle peut diminuer rapidement du fait de deux phénomènes : l'adsorption aux interfaces, caractéristique de tous les agents de surface et qui peut être importante dans des eaux boueuses et la biodégradabilité de ces produits, c'est-à-dire la facilité avec laquelle leur molécule est attaquée par les micro-organismes présents dans l'eau.

Avant de faire des essais de l'action de ce produit sur le terrain, il était nécessaire de connaître l'évolution dans le temps de la concentration de solutions de laurylamidopropylbétaine dans les eaux tropicales.

Ces essais ont été faits au Niger, avec l'aide du CERMES de Niamey (Centre d'Études et de Recherches sur la Méningite et les Schistosomoses), laboratoire rattaché à l'O.C.C.G.E. ; ils ont été réalisés pendant la saison chaude, juste avant les pluies, époque où les eaux sont les plus chaudes et les plus chargées.

La méthode d'analyse dérive du procédé à l'orangé II (Rosen et Goldsmith, 1972). Les seuls aménagements apportés à cette méthode sont liés à la présence de nombreuses particules solides en suspension qui nécessite, avant analyse, une centrifugation durant 30 minutes à 5 500 tours/minute. La décantation des extraits chloroformiques a de même été accélérée par une centrifugation de 10 minutes à 5 500 tours/minutes.

Les mesures ont été effectuées sur des eaux de 3 origines différentes :

- l'eau des rizières de la région de Saga (pH 6,6) ;
- l'eau du canal d'irrigation de Libore (pH 7,7) ;
- l'eau du fleuve Niger en amont de Niamey (pH 8,2 à 8,5).

Pour des raisons de commodité, les premières mesures ont été réalisées dans des bacs de 220 litres en ciment revêtu de mylar, avec et sans agitation et contenant 20 ppm de bêtaïne. L'agitation était réalisée par une pompe à circulation d'un débit de 13 l/minute. La température de l'eau variait de 28° C le matin à 38-39° C en fin d'après-midi. Les pertes par évaporation sont d'environ 75 litres par semaine ; cette évaporation a été prise en compte afin que les courbes de dégradation soient comparables.

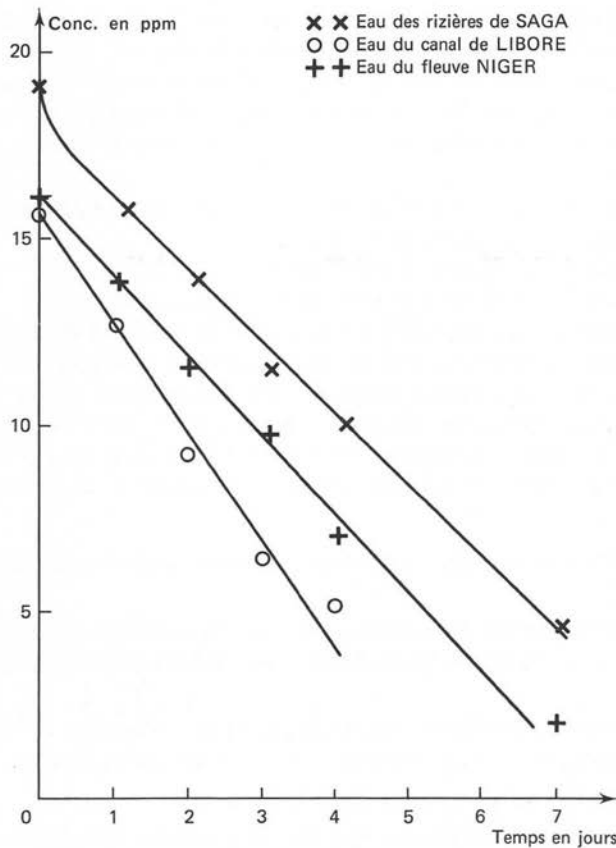
Les courbes obtenues (*fig. 1*), donnant la teneur en bêtaïne en fonction du temps montrent que :

- 1 — L'adsorption par les particules en suspension, immédiate, représente selon les eaux, de 2,7 à 4,7 ppm. L'adsorption la plus importante est celle de l'eau du canal de Liboré.
- 2 — La dégradation est relativement lente ; une chute d'environ 50 % de la concentration nécessite 3 jours ; cette dégradation est pratiquement linéaire.
- 3 — La dégradation est plus rapide en eau agitée.
- 4 — Les pertes moyennes calculées en ppm par jour sont les suivantes :

	Avec agitation	Sans agitation
Eau du Niger	2,10	1,75
Eau de rizière	2,30	1,95
Eau du canal	2,95	2,75

Ces essais ont été poursuivis dans une petite mare artificielle d'environ 270 litres contenant une flore et une faune abondantes (poissons, mollusques et nombreux végétaux). Une quantité de laurylamidopropylbêtaïne correspondant à 5 ppm a été introduite dans cette mare qui a été agitée pendant une heure et demie afin d'obtenir une bonne répartition du produit. A la fin de l'agitation, les analyses ont montré que la concentration en laurylamidopropylbêtaïne était de 4,45 ppm ; l'adsorption sur les diverses interfaces présentes est donc très limitée. La décroissance de la teneur en produit a été la suivante :

Après agitation .....	4,45 ppm
Après 7 h 30 .....	2,35 à 3,20 ppm
Après 24 heures .....	1,20 à 1,50 ppm



La teneur après 24 heures est donc suffisante pour inhiber les cercaires et les miracidiums. Par contre, la faune et la flore de cette mare n'ont apparemment pas été affectées par le produit.

Le dernier essai de biodégradation a été fait sur une mare naturelle dans une ancienne carrière, en bordure du Niger et en amont de Niamey. Les caractéristiques de cette mare étaient les suivantes :

Volume .....	environ 150 m <sup>3</sup> (25 m × 10 m × 0,6 m)
Température .....	34° C
pH .....	8,3
Eau très boueuse	

Cet essai a permis non seulement de confirmer les vitesses de biodégradation de la bêtaïne mais également de voir à quelle vitesse le produit diffusait dans toute la mare.

A cet effet, une solution-mère de laurylamidopropylbêtaïne a été préparée dans un fût de 200 litres, avec une quantité correspondant à une concentration moyenne

dans la mare de 5 ppm. Le contenu a été pompé en un point de la mare, au milieu d'un des côtés et les dosages effectués aux deux extrémités A et B de celle-ci, sans agitation provoquée.

Les résultats des analyses au cours du temps aux deux points A et B sont les suivants :

	Point A	Point B
Temps	0	0
Après 2 heures	2,35 ppm	1,95 ppm
Après 7 h 30	1,95 ppm	1,45 ppm
Après 24 heures	0,95 ppm	0,90 ppm

Ces résultats montrent que :

- la bétaine se disperse rapidement dans la mare ; deux heures après l'introduction, les teneurs aux deux points extrêmes de la mare sont du même ordre ;
- malgré une eau très boueuse, il reste une quantité suffisante de produit en solution ;
- la teneur en bétaine au bout de 24 heures est de l'ordre du ppm ;
- les grenouilles et poissons de la mare n'ont pas paru affectés par l'opération.

## Conclusion

La laurylamidopropylbétaine est un agent d'inhibition actif vis-à-vis des cercaires et des miracidiums dès les concentrations comprises entre 0,1 et 5 ppm. Les essais de dégradation faits dans des eaux tropicales, chargées en particules en suspension, ont montré que ce produit se dégradait relativement lentement, ce qui permet une expérimentation sur le terrain à condition de faire un apport régulier de produit dans l'eau à traiter. Une des méthodes envisagées consiste à introduire la laurylamidopropylbétaine dans le savon (à raison de 5 %) utilisé pour le lavage du linge et les lavages corporels. Il apparaît en effet que dans beaucoup de foyers, un grand nombre des infections par les cercaires de schistosomes se produisent au moment des baignades ou du lavage du linge ; la bétaine serait ainsi introduite tous les jours et en particulier aux endroits considérés comme des sites de transmission par l'intermédiaire du savon de ménage. Une telle expérimentation est prévue en 1983 au Niger.

## BIBLIOGRAPHIE

- COMBES C., ARNAUDIS J. : Research on the use of surface active substances in the protection against *Schistosoma cercariae*. *Acta Tropica*, 1982, 39, 79-84.
- FRICK L. P., HILLYER G. V. : The influence of pH and temperature on the cercaricidal activity of chlorine. *Milit. Med.*, 1966, 131, 373-378.
- FRIPP P. J., ARMSTRONG F. A., JASKULLA E. : The cercaricidal properties of commercial hypochlorite preparations. *S. Afr. Med. J.*, 1972, 46, 1819-1822.
- HAAKS W., SCHMITT R. : Characterization of Chemical Stimuli for the Penetration of *Schistosoma mansoni cercariae*. *Parasitenkunde Z.*, 1982, 66, 293-307 et 309-319.
- JONES M. F., BRADY F. J. : Effects of water treatment processes on *schistosoma cercariae*. *Nat. Inst. Hlth. Bull.*, 1947, 189, 109-130.
- ROSEN, M. J., GOLDSMITH H. A. : Systematic analysis of surface active agents. Vol. 12, pp. 459-460. *Interscience publ.*, New York, 1972.
- WITENBERG G., YOFE J. : Investigation on the purification of water with respect to *schistosomase cercariae*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1938, 31, 549-570.