

Contamination des poissons par les corps radio-actifs

Etude expérimentale sur le métabolisme

du Ca^{45} insoluble

(Note technique préliminaire)

par M. DUMESTE et R. GARDEL

La radio-contamination de l'eau de mer a été établie à la suite des explosions thermo-nucléaires expérimentales réalisées dans le Pacifique à partir du 1^{er} mars 1954 (P. PIZON, G.M. DUNNING).

Cette radio-activité était due aux cendres constituées par des fragments de corail dispersés par l'explosion sous forme de poussière de calcite devenue radio-active, soit par induction, soit par adsorption des produits de fission, probablement à l'état d'atomes.

Le taux de radio-activité normale de l'eau de mer est faible, il varie de 0,02 à 0,3 10^{-3} $\mu\mu\text{c}/\text{ml}$ (1), ce qui représente des quantités pondéralement infimes de corps radio-actifs si l'on admet qu'un curie correspond à un gramme de radium.

La contamination des mers s'est montrée très variable, la répartition des éléments radio-actifs étant soumise, entre autres causes, aux courants marins, aux différences de température de l'eau, au régime des vents ; c'est ainsi que selon Y. MIYAKE, Y. SUGIURA, K. KAMEDA, H. NAKAMURA, H. MIYOSHI, des prélèvements faits à plusieurs centaines de kilomètres de Bikini, vers le 15 mai 1954, soit deux mois et demi après la première

(1) $\mu\mu\text{c}$ = micro micro curie, soit 10^{-12} curie.

explosion, montrent que l'activité d'un litre d'eau de surface était de 85 c/mn (2), qu'à 500 m de profondeur on trouvait 5.870 c/mn et à 300 m, seulement 23 c/mn ; quelques kilomètres plus loin, un litre d'eau de surface avait une activité de 5.542 c/mn, à 50 m de profondeur on mesurait 6.500 c/mn et à 300 m, 17 c/mn.

Comment se comportent les poissons dans cette eau de mer ? A 4.000 km de Bikini, en mai 1954, M. SAIKI, S. YOSHINO, R. ICHIKAWA, Y. HIYAMA, T. MORI, trouvent chez des poissons une activité spécifique de 380 c/mn/g pour le sang, de 150 c/mn/g pour le muscle, de 60 c/mn/g pour le foie.

Le plancton est très riche en produits radio-actifs avec des variations considérables qui vont de 100 à 4.000 c/mn/g selon T. KUROKI et T. TANOUÉ.

Tous ces faits permettent de penser que les poissons de mer, et en particulier les migrateurs comme les saumons, les thons, les harengs... peuvent, au cours de leurs périples, ingérer des quantités plus ou moins importantes de corps radio-actifs qui se fixent dans leurs tissus et s'y métabolisent. Ces poissons, pêchés souvent très loin des zones de pollution et livrés à la consommation de l'homme, soit frais, soit en conserves, contaminent alors celui-ci par les radio-éléments qu'ils ont absorbés.

Les poissons d'eaux douces ne sont d'ailleurs pas à l'abri des radio-contaminations, car les fleuves, les rivières, les étangs, peuvent être souillés non seulement par les retombées des poussières et les pluies radio-actives, mais aussi par les déchets et infiltrations — accidentelles ou non — provenant d'installations nucléaires industrielles (W. COOPEY).

La contamination radio-active de la faune aquatique a été constatée et étudiée par de nombreux savants japonais et américains : K. AMANO, K. YAMADA, M. BITO, A. TAKASE, S. TANAKA, A. SAIKI, K. SANO, Y. HIYAMA, R. ICHIKAWA, F. YASUDA, H.L. ROSENTHAL, T. TOMIYAMA, S. ISHIO, K. KOBAYASHI.

A notre connaissance, quelques recherches seulement ont été entreprises en France sur ce sujet, en particulier par M. FONTAINE, M. BARADUC, Y.-A. FONTAINE, M. OLIVEREAU ; c'est ce qui nous a incités à étudier certains aspects de cette importante question.

(2) c/mn/g = coups minute gramme.

Dans la note que nous avons l'honneur de soumettre à l'attention de l'Académie Vétérinaire de France, nous nous bornerons aujourd'hui à exposer les principaux points d'une technique de mesure de la radio-activité acquise chez les poissons d'eau douce, en donnant quelques premiers résultats. Ces travaux nous permettront d'aborder ultérieurement l'étude de certains problèmes de biologie cellulaire et de physiologie tissulaire liés à la radio-contamination des poissons par les produits de fission.

Le protocole général de notre expérimentation est simple, il s'inspire des conditions naturelles de vie des poissons ; il consiste à immerger plusieurs lots de poissons, d'une espèce déterminée, de poids moyens comparables, dans une eau dont le taux de contamination radio-active, par un radio-isotope choisi, est parfaitement connu, et ce, pendant des temps variables. Les poissons sont alors retirés de ce bac radioactif et soit mesurés immédiatement, quant à leur radio-activité, soit placés pendant des durées de temps variables dans un bassin dit de *migration* ; ils sont ensuite mesurés dans les mêmes conditions que les précédents selon la technique que nous avons mise au point.

Le radio-isotope que nous avons utilisé est le Ca^{45} . Pourquoi ce choix ? Pour les raisons suivantes :

— Le Ca^{45} a un métabolisme comparable à celui du Sr^{90} ;

— Le Ca^{45} a une période de 152 jours, ce qui est suffisant pour conserver pendant toute la durée de l'expérimentation une radio-activité sensiblement constante sans offrir de danger trop grand en cas d'erreur ou d'accident de manipulation.

— Le Ca^{45} est un émetteur β mou, sa faible énergie rayonnante, 0,25 Mev, oblige l'expérimentateur à effectuer ses mesures en couche infiniment mince pour éviter une auto-absorption gênante.

— Le Ca^{45} peut être utilisé sous la forme soluble (CaCl_2) ou insoluble (CO_3Ca), ce qui permet d'étudier les variables que ces deux aspects physiques introduisent dans l'étude du métabolisme de ce corps.

Le Ca^{45} est obtenu en irradiant pendant quatre semaines, à la pile de Saclay, du CO_3Ca qui acquiert après ce temps d'exposition une radio-activité de 3,8 millicurie pour 10 g ; ce corps se présente sous la forme d'une poudre blanche, extrêmement fine et très légère, elle est livrée dans un tube d'aluminium.

L'extrême légèreté de la poudre de CO_3Ca^* et sa finesse obligent à prendre de grandes précautions pendant sa manipulation

qui se fera à l'abri de tout courant d'air, l'expérimentateur portera de préférence un masque sur la bouche et le nez afin d'éviter l'absorption accidentelle de la moindre particule de calcium radio-actif.

Les poissons d'eau douce utilisés sont des poissons rouges — *Carassius auratus* — d'un poids moyen de 10 g, leur radio-activité naturelle mesurée dans nos conditions d'expérience n'a pas été sensible à la mesure, alors que certaines espèces de poissons de mer, ainsi qu'a pu le constater J. MORRE (communication orale), ont une radio-activité réduite, due au potassium 40, qui ne dépasse pas de 50 % le mouvement propre du compteur.

L'eau utilisée dans le bac de contamination est rendue radio-actives par mise en suspension de Ca^{45} au taux de 0,1 g pour un litre d'eau.

Le CO^3Ca^* est pesé dans une coupelle de verre préalablement tarée, à l'aide d'une balance de haute précision (1/100^e de mg) dont les plateaux sont protégés par une feuille d'aluminium.

La coupelle et son contenu sont immergés dans le bac, le CO^3Ca^* se met en suspension et celle-ci est maintenue sensiblement homogène par le fonctionnement continu d'un aérateur.

La radio-activité de l'eau contenant la suspension de CO^3Ca^* est alors mesurée dans une coupelle d'aluminium standard (30 mm de diamètre, 4 mm de hauteur) préalablement tarée et pesée au 1/100^e de mg près avec son contenu. On obtient : avant évaporation, 100 c/mn/g, après évaporation, 2.500 c/mn/g, ce qui montre la nécessité absolue d'évaporer pour éviter les phénomènes d'écran et d'auto-absorption.

Le compteur Geiger-Muller utilisé est du type cloche, à fenêtre de mica — épaisseur 2 mg/cm². Toutes les mesures sont effectuées sous géométrie constante à la distance de 2 cm.

Les poissons sont immergés dans le bassin de contamination dont la température est maintenue à 18° C environ. Pour la mise au point de cette technique, nous les y avons maintenus 24 heures. Pêché à l'aide d'une épuisette en polyvinyle, le poisson est plongé pour euthanasie dans de l'eau pure à 70° C pendant une minute.

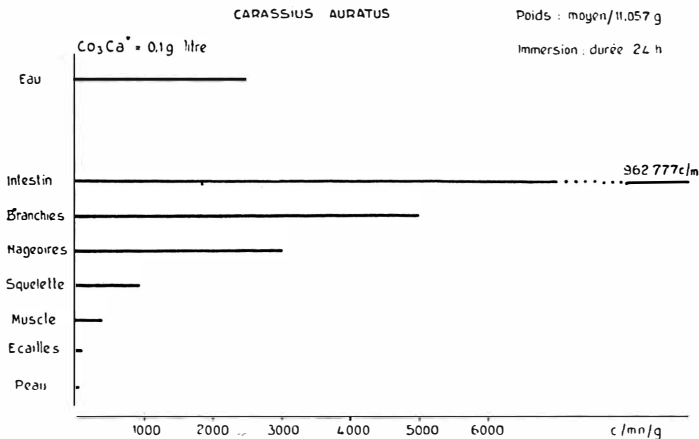
La dissection se fait dans un plateau à fond de liège recouvert d'une feuille d'aluminium et d'une feuille de papier filtre, le poisson étant posé sur cette dernière.

Le poisson est séché à l'aide de papier filtre, puis disséqué et divisé en plusieurs parties : écailles, peau, nageoires, branchies, viscères, muscles, squelette.

Ces divers constituants sont introduits dans des tubes à essais spéciaux, tarés, et très exactement pesés au $1/10^6$ de mg, puis minéralisés par l'acide azotique chauffé au voisinage de l'ébullition et jusqu'à ce que la solution devienne limpide ; l'ensemble est alors pesé avec la plus grande précision, ce qui permet d'avoir le rapport échantillon/acide azotique.

Une certaine quantité de la solution obtenue est versée dans une coupelle d'aluminium standard, cette quantité est très exactement pesée, puis évaporée sur platine chauffante dans une hotte conditionnée jusqu'à obtention d'une couche d'échantillon infiniment mince, la coupelle est ensuite placée dans le passeur d'échantillons sous le compteur G.M.

Les résultats moyens des mesures de l'activité acquise, sans passage dans le bassin de migration, ont permis d'établir le graphique suivant :



Toutes ces mesures ont été effectuées avec une précision statistique constante en travaillant en nombre de coups prédéterminés.

On voit tout de suite que l'intestin a concentré le Ca^{45} insoluble de façon considérable, puisque ce viscère est 360 fois plus actif que l'eau du bassin de contamination. Tout se passe comme

si les poissons avaient filtré l'eau et retenu surtout les fines particules de l'isotope, aussi bien d'ailleurs au niveau des branchies que des nageoires où des phénomènes d'adsorption peuvent être mis en jeu. Nous avons constaté que vingt-quatre heures d'immersion en eau fortement contaminée par du CO^3Ca^* insoluble, suffisent pour que l'ion Ca se transporte dans le muscle et se fixe sur le squelette de façon très sensible.

Ces premières constatations pourront sans doute permettre d'étudier ultérieurement les modalités de passage de l'ion Ca à travers la paroi intestinale et ses différentes phases de concentration et d'équilibre entre les tissus.

Nos expérimentations ont un objectif pratique évident : le contrôle de la radio-activité des produits de la pêche par la mise en œuvre de techniques simples et rapides. A la détermination de la radio-activité totale assez difficile à réaliser chez de gros poissons et crustacés, pourra peut-être se substituer la recherche de la radio-activité de certains organes électifs de fixation et de concentration des radio-isotopes.

BIBLIOGRAPHIE

- AMANO K., YAMADA K., BITO M., TAKASE A. et TANAKA S. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 839-848.
- COOPEY W. — *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 1953, 72, 315-327.
- DUNNING M.G. — *United States Atom. Energ. Com.*, août 1957, Washington.
- FONTAINE M., BARADUC M. et FONTAINE Y.A. — *C.R. Soc. Biol.*, 1955, 149, 1330-1332.
- FONTAINE M.-J. — *J. Cons. Int. Expl. de la mer*, 1956, 21, 240-249.
- HIYAMA Y., ICHIKAWA R. et YASUDA F. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 1119-1133.
- KUROKI T. et TANOUE T. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 1011-1020.
- MIYAKE Y., SUGIURA Y. et KAMEDA K. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 953-964.
- MIYOSHI H. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 965-981.
- MORI T. et SAIKI M. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 889-894.

- NAKAMURA H. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 997-1010.
- OLIVEREAU M. — *C.R. Soc. Biol.*, 1955, 149, 536-539.
- PIZON P. — *Presse Méd.*, 1957, 65, 1768.
- ROSENTHAL L.-H. — *Science*, 1956, 124, 571-574.
- SAIKI A. et SANO K. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 1105-1117.
- SAIKI M., YOSHINO S., ICHIKAWA R., HIYAMA Y. et MORI T. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 825-838.
- TOMIYAMA T., ISHIO S. et KORAYASHI K. — *Res. in the Eff. and Inf. Nucl. Bomb Test Expl.*, 1956, 2, 1151-1155, 1157-1162, 1163-1172.

DISCUSSION

M. MARCENAC. — Je félicite M. DUMESTE pour cette communication qui prouve que malgré tout les vétérinaires militaires sont susceptibles d'entreprendre des travaux biologiques et s'écartent très largement ainsi de la coutume antérieure.

M. DUMESTE a terminé par la question que je voulais lui poser, c'est-à-dire par les recherches ayant une application médicale en ce qui concerne l'affinité des différents isotopes pour les divers tissus normaux ou pathologiques. Leur localisation ou leur persistance dans les néoplasmes malins de la thyroïde, par exemple, permettent un diagnostic précis quant à l'étude des transformations histo-pathologiques ; ces données guident naturellement l'acte chirurgical.

Il a été montré notamment que le phosphore radio-actif injecté dans le cancer du rectum chez l'homme chemine dans les lymphatiques déjà intéressés par le processus et montre à la radiographie les limites auxquelles doit parvenir l'intervention pour être sûrement curative.

M. DUMESTE. — J'avais pensé utiliser le calcium pour détecter les lésions osseuses en puissance, chez les chevaux de course en particulier, mais cela est très difficile chez ces animaux parce que les conditions ne sont pas les mêmes que chez l'homme. Il est très facile chez l'homme, lorsque l'on fait un examen de la thyroïde à la teinture d'iode, d'avoir une géométrie de l'appareil examiné à 1 mm. près, si la tumeur est à 1 cm. ou 2 cm. 1/2 de la peau, mais chez un animal cela paraît une gageure. Peut-être pourrions-nous le faire plus facilement lorsque nous aurons des compteurs plus maniables. Je pense aussi que cette méthode donnera des résultats intéressants dans l'exploration de l'appareil circulatoire.

M. BASILE. — Dans l'observation rapportée, s'agit-il de grammes de produits frais ou d'extraits secs ?

M. DUMESTE. — Ce sont des produits frais.

M. BASILE. — Ces radio-activités chez les poissons seraient très intéressantes à étudier au point de vue vétérinaire et hygiène alimentaire. D'après l'une des conclusions du dernier Congrès de Lausanne, ce sont les produits laitiers qui représentent le lien le plus dangereux entre les radiations radio-actives et l'homme, par l'intermédiaire des végétaux, de la vache et du lait ; en principe, ce sont surtout les produits laitiers qui sont une source de calcium pour l'alimentation humaine, au moins dans les pays riches. Je crois d'ailleurs qu'on ne recherche pas le calcium radio-actif directement dans le lait, mais qu'on le recherche dans les os du mouton, non pas qu'il s'agisse d'un produit de consommation, mais parce que l'os de mouton permet de faire un dosage plus facile et que les os du mouton sont le témoin de la contamination des pâturages ; peut-être y aurait-il intérêt à faire des recherches de sérum radio-actif sur le mouton ?
