

PROCESSUS DE CONTAMINATION DE *MICROCOSMUS Sp.* EN PRÉSENCE DE FER 59 ET MODES DE DÉCONTAMINATION (*)

M. LEANDRI et N. BATTANI (**)

(Manuscrit reçu le 2 décembre 1969)

L'utilisation chaque jour plus intensive de radioéléments dans des secteurs variés de l'activité économique caractérise notre époque; il en résulte des déchets qui doivent être éliminés.

Le rejet de déchets faiblement radioactifs dans les eaux marines est suggéré par l'immensité des océans. Toutefois, on ne saurait y procéder sans étude approfondie portant sur l'ensemble des paramètres impliqués par ces rejets. Parmi eux, la fixation des radionucléides par les espèces marines et notamment par celles qui sont consommées par l'homme, constitue un facteur particulièrement important dont la connaissance est indispensable avant toute décision de rejet [1, 2].

A cette tâche, qui requiert et met en œuvre des moyens et des efforts considérables de recherche, notre laboratoire participe [3, 4, 5, 6, 7] depuis plusieurs années, étudiant plus particulièrement la pollution radioactive artificielle de coquillages et autres « fruits de mer » et les possibilités pratiques de décontamination de ces espèces.

Dans nos études, le Fer 59 et l'Iode 131 sont utilisés comme polluants artificiels, car ils sont représentatifs de deux classes d'isotopes radioactifs, produits d'activation et de fission, et de plus ils interviennent dans les métabolismes essentiels des invertébrés marins et en tracent les étapes grâce à leur caractère radioactif mesurable.

Après nous être intéressés aux coquillages de grande consommation tels *Mytilus galloprovincialis* et *Gryphaea angulata*, nous avons porté nos efforts sur l'espèce des Ascidiés, car elle fait partie d'espèces qui concentrent fortement ces deux radionucléides.

L'étude présentée ici concerne la contamination et la décontamination de *Microcosmus Sp.* en présence et en l'absence de Fer 56; cet Ascidié Stolidobranche, dénommé couramment « Violet », est assez répandu sur nos côtes méditerranéennes et de consommation courante; en outre, il constitue un groupe critique car il concerne la population jeune ou déficiente plus largement que d'autres

(*) Ce travail a été effectué dans le cadre du contrat n° 10 042 - 11/B 6 entre le C.E.A. (D.P.S. chef du Départ. : Dr. H. JAMMET) et l'I.R.A.M.L.R. (Faculté de Médecine - Prof. H. ROUX).

(**) Institut d'Hygiène Tropicale et de Médecine Sociale, Faculté de Médecine de Marseille - Prof. J. SAUTET.

« Fruits de mer ». De plus, il paraît posséder des caractéristiques intéressantes pour la détection biologique des pollutions par ^{131}I et ^{59}Fe .

1 - TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

1.1 STOCKAGE DE L'EAU

L'eau de mer nécessaire aux expérimentations nous est fournie par des camions-pompes du corps des Sapeurs-Pompiers et est stockée dans une salle dans des conditions d'aération et d'hygiène convenables.

1.2 ANIMAUX

Nos animaux sont recueillis sur les marchés locaux, ils sont choisis pour former des lots très variés, afin de tendre vers une représentation statistique fidèle de l'espèce et surtout des individus consommés.

Ils sont stockés dans des aquariums aérés pour les acclimater et prévenir autant que possible des effets d'agression, effets qu'il paraît néanmoins difficile d'éliminer tout à fait dans ce type d'expérimentations.

1.3 RADIOÉLÉMENTS

Le radioélément Fer 59 nous est fourni par le C.E.N. de Saclay, sous forme de citrate ammoniacal ferrique.

1.4 CONDITIONS DE CONTAMINATION

Les contaminations s'effectuent dans des bacs de polyéthylène, d'une contenance de 10 litres d'eau de mer naturelle, aérée convenablement par des diffuseurs d'air et non filtrée. Ils sont couverts pour empêcher la formation d'aérosols radioactifs et une variation sensible de la salinité (35 ‰).

La température des solutions est maintenue à 22 ± 4 °C, les conditions d'éclairage suivent un rythme nyctéméral et sont quasi normales (en effet l'épaisseur de polyéthylène compense une hauteur d'eau que nous ne pouvons reproduire dans ces expérimentations).

Les animaux sont introduits simultanément avec le radioélément et l'élément stable dans les séries où l'on teste l'effet d'entraîneur.

La répartition est de 5 animaux dans chaque bac, leur poids s'étale de 1 g à 100 g environ. Chaque série d'expérimentations comporte en général 10 bacs, soit 50 individus.

Aucun apport de nourriture n'est effectué pendant l'expérimentation afin de prévenir une consommation non contrôlée de Fer stable qui peut perturber les phénomènes étudiés.

Les doses initiales de radioéléments employées ici sont de 4 $\mu\text{Ci/l}$ et de 10 $\mu\text{Ci/l}$.

Des séries d'expérimentations ont permis de tester l'effet d'entraîneur du Fer stable 56, sous forme de citrate ferrique ammoniacal ou de FeCl_3 . D'autres ont

concerné l'effet de force ionique de la solution, par addition de NaCl ou dilution de l'eau de mer normale avec de l'eau distillée.

Les durées de contamination sont de 21 jours en moyenne, ainsi que la durée de décontamination.

1.5 COMPTAGES

Nous effectuons des comptages journaliers pour contrôler les cinétiques globales d'accumulation, rétention et excrétion des animaux.

1.5.1 Animaux

Les animaux sont comptés *in vivo*, par une technique de comptage total, à distance suffisante (30 cm) du détecteur pour négliger les effets d'angle solide et comparer efficacement à des fantômes-standard.

Le compteur est doté d'un scintillateur Na I (Tl) type DSCI avec un sélecteur type TSAS 11 réglé sur 5 volts et une électronique associée (H-T = 1 050 volts, Gain TAP 100 = G/u) suivi d'une échelle de comptage (2 tiroirs double décade type T2 D1 et un compteur prétemps-précoups type TT CP 1).

1.5.2 Solutions

Les solutions sont échantillonnées de façon à fournir une image exacte du taux de pollution moyen. Les échantillons, de 1 cm³, sont comptés dans un cristal-puits Na I (Tl) avec la même électronique associée que pour le compteur Animaux (H-T = 1 240 volts, Gain Gabon = 4, Gain TAP 100 = 6/4).

Les conditions de comptage utilisées réalisent un compromis acceptable entre des mesures nombreuses (30 à 50 animaux) et une précision statistique valable (10 %) sur les comptages.

1.6 AUTOHISTORADIOGRAPHIE

Pour déceler les organes qui accumulent ou retiennent préférentiellement les radioéléments, nous procédons ainsi :

Les animaux choisis sont tout d'abord fixés dans une solution de formol à 4 %, ils sont ensuite déshydratés par la méthode classique (bains d'alcool, puis de toluène) et alors trempés dans des bains de paraffine liquide et moulés ensuite en des blocs qu'on laisse solidifier.

Ensuite, des coupes de ces blocs, obtenues avec un rasoir spécial, sont mises sur lames et, en cassette, appliquées sur des films radio Kodak pendant 8 jours; le développement de ces films nous fournit des autohistoradiographies qui visualisent la répartition du radionucléide sur les différents tissus.

Cette méthode reste cependant moins efficace que la technique de congélation (départ des molécules contenant du Fer 59 et labiles dans les différents bains), mais notre laboratoire ne peut actuellement l'appliquer.

Notre étude analyse l'influence des variables

- rapport $\frac{[\text{Fer } 59]}{[\text{Fer total}]}$ en faisant varier [Fer 59] ou [Fer 56]
- force ionique des solutions (salinité)
- taille des animaux
- temps

sur les paramètres importants de contamination et de décontamination des animaux suivants :

- vitesse et localisation histologique de la contamination,
- facteurs de concentration à l'équilibre,
- vitesse et localisation de la décontamination,
- périodes biologiques et compartiments concernés.

2 - RÉSULTATS

2.1 COMPORTEMENT DES SOLUTIONS FER-EAU DE MER

Le fer, introduit sous forme de sels ou de complexes dans l'eau de mer (pH \approx 8) donne naissance à des formes essentiellement particulaires, du type général Fe_2O_3 (n H_2O).

On note cependant un comportement différent suivant que les solutions contiennent ou non des animaux (courbe 1 - 2).

En effet, dans une solution exempte d'animaux, la concentration en fer décroît suivant une loi du type :

$$\frac{N}{e^{-\lambda_{\text{Fe } 59} \cdot t}} = N_1 e^{-\lambda_1 t} + N_2 e^{-\lambda_2 t}$$

avec :

$$N = N_1 + N_2 \quad \text{pour } t = 0$$

$$\lambda_1 \gg \lambda_2; \quad N_1 \gg N_2.$$

Ceci correspond à une séparation granulométrique assez tranchée : le terme important et rapide de décroissance correspondant à des grosses particules qui flocculent rapidement, le terme moins important et lent de décroissance correspondant pour sa part aux particules fines qui ne sédimentent que très lentement.

La décroissance en concentration du fer des solutions contenant des animaux est plus complexe, du type :

$$\frac{N}{e^{-\lambda_{\text{Fe } 59} \cdot t}} = N'_1 e^{-\lambda'_1 \cdot t} + N'_2 e^{-\lambda'_2 \cdot t} + N'_3 e^{-\lambda'_3 \cdot t}$$

avec :

$$N'_1 + N'_2 + N'_3 = N \quad \text{pour } t = 0$$

$$\lambda'_1 \gg \lambda'_2 \gg \lambda'_3$$

$$N'_1 \ll N'_2 \ll N'_3$$

Ceci rejoint l'analyse que d'autres auteurs ont faite du phénomène [8] et nous amène à rejeter les déterminations indirectes de l'activité prise par les animaux en calculant la différence d'activité existant entre une solution-témoin et la solution contenant les animaux.

2.2 CONTAMINATIONS

2.2.1 Cinétique d'accumulation :

Dans ces expérimentations nous ne suivons que la cinétique globale d'accumulation des animaux.

Les courbes obtenues (courbes 3 et 4) en portant l'activité spécifique (*) des animaux en fonction du temps, non corrigée de la décroissance radioactive du Fer 59, nous montrent que :

— l'accumulation est très rapide dans les premières 24 heures de contamination et ensuite un palier légèrement décroissant s'établit; seuls, les animaux de grande taille (Poids > 60 g) semblent présenter un maximum accentué et fugace de contamination vers le 1^{er} jour;

— l'allure globale des contaminations par le Fer 59 ne semble pas influencée par les taux différents de pollution utilisés : 4 $\mu\text{Ci/l}$ et 10 $\mu\text{Ci/l}$ initiaux, et l'activité spécifique des animaux semble être fonction quasi linéaire du taux de pollution initial;

— nous ne percevons pas d'effet important d'entraîneur par le Fer stable dans le domaine de concentrations suivant en Fer 56 : 10 à 5 mg/l. Nous notons une relation du type $A.s. = K [P]^{-0,45}$

avec P = poids des animaux
 K = constante
 si t fixé.

Cette relation nous indique que ce sont les animaux jeunes qui accumulent plus intensivement le Fer 59.

— L'influence de la force ionique (salinité) sur la cinétique d'accumulation n'a pu être valablement analysée car les « violets » sont des animaux très sensibles aux variations de salinité, tout au moins dans nos conditions d'expérience, et dès que l'on s'écarte d'une valeur normale (35 ‰) il apparaît une forte mortalité (courbe 5).

2.2.2 Facteurs de concentration

Les facteurs de concentration dynamique (**) atteignent un palier vers 18-21 jours et il semble donc qu'un équilibre s'est établi alors entre le milieu et les animaux, dans nos conditions d'expérience.

La variabilité de ces facteurs de concentration à l'équilibre est grande en effet; ils s'échelonnent de 300 à 3 000.

On discerne cependant, dans un domaine de concentrations en Fer 56 de 10 à 5 mg par litre, une relation assez stricte (courbe 6), entre les facteurs de concentration à l'équilibre et le poids P des animaux du type : $F.c. \approx 3 000 [P]^{-0,45}$

$$(*) \text{ Activité spécifique : } (\mu\text{Ci/g}) \quad \frac{\text{Activité animale } (\mu\text{Ci})}{\text{Poids animal (g)}}$$

$$(**) \text{ Facteur de concentration dynamique : } \frac{A.s. \text{ Animal } (\mu\text{Ci/g})}{A.s. \text{ Solution } (\mu\text{Ci/g})}$$

dynamique, car non à l'équilibre.

Cette relation n'a pu être établie dans un domaine de concentrations supérieures à 5 mg par litre, mais alors les phénomènes sont très perturbés et nos conditions expérimentales ne nous permettent pas d'explorer ces zones efficacement.

Pour comparer les valeurs des facteurs de concentration obtenus par cette méthode avec une détermination basée sur les dosages chimiques du Fer 56 stable, nous relevons dans l'ouvrage « Elementary Composition of Marine Organisms » les faits suivants :

— La concentration en fer de *Microcosmus Sp.* est supérieure ou égale à $1,25 \times 10^{-5}$ % du poids de matière vivante, d'après un travail d'I. et W. MODDAK et une estimation de VINOGRADOV.

— En mer Méditerranée les teneurs en fer stable s'échelonnent de 2 à 20 µg/kg d'eau de mer, avec une teneur moyenne égale à 10 µg/kg. Ceci nous permet de fixer des limites aux facteurs de concentration du Fer par *Microcosmus*, elles sont de 625 et 6250.

Nos valeurs expérimentales ne s'écartent guère de ces résultats, mais on n'oubliera pas que ces limites sont approximatives et que d'autre part la concentration en Fer près des côtes, sous l'influence d'apports terrigènes, peut être relativement plus importante [9].

2.2.3 Localisation histologique

On discerne par autoradiographie, la fixation préférentielle du Fer 59 sur la tunique de *Microcosmus Sp.*, mais la partie interne de la tunique, qui ne contient pas de micro-organismes, semble aussi contaminée que la partie externe (fig. 8).

2.3 DÉCONTAMINATIONS

2.3.1 Lois de décontamination

Nous ne suivons que la décontamination globale des animaux.

Pour comparer valablement les résultats entre eux, la décontamination biologique propre des animaux, obtenue en corrigeant la décroissance brute de la part qui revient au Fer 59, est exprimée en pour cent de dose initiale en fonction du temps.

Nous constatons que la loi de décroissance biologique est du type :

$$\frac{N}{e^{-\lambda_{Fe 59} \cdot t}} = N_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + N_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t}$$

avec :

$$N_1 + N_2 = 100$$

$$\lambda_1 \ll \lambda_2;$$

$$N_1 \gg N_2;$$

Nous voyons donc que la décroissance peut être attribuée à deux compartiments différents, avec une période biologique différente pour chacun d'eux.

2.3.2 Tests d'effets améliorants de la décontamination

Notre point de vue d'hygiéniste s'exprime ici : nous voulons déceler des variables qui peuvent hâter, en les faisant varier judicieusement, la décontamination des animaux.

Mais l'analyse des résultats (courbe 7) de ces séries d'expérimentations, ne nous révèle aucun effet sensible, dans nos conditions d'expériences, des variables suivantes :

- taille des animaux,
- [Fer 59] dans les animaux et dans la solution de contamination,
- [Fer stable] dans les solutions de contamination et de décontamination.

Nous avons cependant noté que, dans le cas d'animaux morts, si la disposition des compartiments reste identique, les deux périodes biologiques semblent plus courtes et se calquent alors sur les périodes enregistrées pour des solutions ne contenant pas d'animaux.

De plus dans les expérimentations récentes de décontamination suivant des contaminations par injections faites suivant le modèle des activités d'animaux : $A.t. = K \cdot [P]^{-0,55}$ sur des individus de tailles diverses, il semblerait, bien qu'ayant artificiellement grossi un compartiment, que les phénomènes aient la même allure globale après élimination quasi totale de la composante rapide exagérée de la contamination.

2.3.3 Localisation histologique

La décontamination de *Microcosmus Sp* ne semble pas perturber les sites préférentiels du Fer 59.

3 - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Nous avons vu que *Microcosmus Sp.*, dans une eau de mer contaminée par le Fer 59, accumule rapidement de fortes proportions de ce radioélément, et un état d'équilibre se manifeste après 20 jours environ, dans nos conditions d'expérience.

Les facteurs de concentration à l'équilibre obtenus sont de l'ordre de 300 à 3 000 pour des *Microcosmus Sp.* de poids variant de 90 g à 1 g et l'on note une relation du type

$$F.c. = 3\ 000 \cdot [P]^{-0,45}.$$

Ces facteurs de concentration semblent correspondre aux résultats estimés d'après les dosages chimiques de Fer 56, mais pour évaluer la précision de ces dosages, il faut noter la variabilité assez grande de la concentration en Fer dans l'eau de mer, suivant le lieu et la profondeur, et dans les animaux eux-mêmes.

Ces facteurs de concentration ne semblent pas influencés par une différence de taux de pollution par le Fer 59 et par la concentration en Fer 56, tout au moins dans le cadre de nos possibilités expérimentales.

Le radioélément Fer 59 est localisé préférentiellement sur la tunique de *Microcosmus Sp.* mais le rôle des micro-organismes qui y vivent ne paraît pas prépondérant car la partie interne semble autant contaminée que la partie externe de ce tissu; de plus cette accumulation préférentielle ne semble pas due à une simple adsorption de surface, mais plutôt à un mécanisme mixte d'adsorption physico-chimique par la surface externe et d'adsorption biologique active, car la tunique semble être un tissu d'accumulation des cellules usées [10, 11] et on pense qu'elle joue un rôle important dans la Blastogénèse de ces animaux, qui, bien qu'ayant surtout des pigments sanguins à prédominance vanadique, doivent sûrement posséder des pigments ferriques du type Cytochrome et des protéines liées au Fer du type Hémoglobine.

En ce qui concerne la décontamination, nous voyons apparaître deux compartiments distincts ($A \approx 20\%$, $B \approx 80\%$), chacun étant doté d'une période biologique différente ($T_A \approx 7$ h, $T_B \approx 60$ j).

Ces données confirment le mécanisme mixte de désorption physico-chimique et d'excrétion biologique active.

De plus, il semblerait que le compartiment A corresponde au corps et au liquide interne, le compartiment B correspondant à la tunique.

Nous n'avons pu déceler d'influences notables sur la décontamination des variables :

- taille des animaux,
- (Fer 59) dans les animaux et les solutions de décontamination,
- (Fer 56 stable) dans les solutions de décontamination et de contamination.

Ces résultats que nous espérons étendre dans des expérimentations ultérieures, nous amènent à tirer les conclusions pratiques suivantes, intéressantes du point de vue de la Radioprotection.

Les « Violets » contaminés par le Fer 59, présentent un risque plus grand de contamination externe par contact avec la tunique de ces animaux, que de contamination interne par ingestion du corps détuniqué.

De plus, une décontamination en eau de mer naturelle permet d'accroître encore favorablement l'écart entre ces deux risques, mais il n'apparaît pas qu'une augmentation de la concentration en Fer 56 stable puisse améliorer nettement ces résultats, et nous rechercherons ultérieurement si l'Aluminium ou le Manganèse peuvent avoir un effet d'entraîneur marqué vis-à-vis du Fer 59.

Il semble aussi que *Microcosmus Sp.* dans le cadre d'une pollution par éléments d'activation puisse constituer un détecteur biologique valable, car son facteur de concentration du Fer est très important; et les Fer 56 et 59 sont des éléments importants dans la pollution par activation.

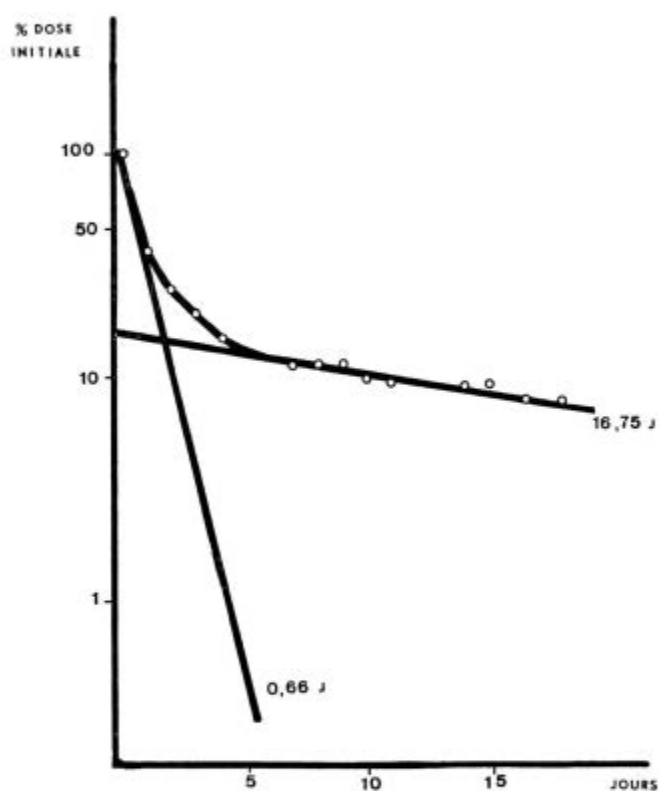


FIG. 1. — Décroissance en fonction du temps de la concentration en Fer 59 d'eau de mer ne contenant pas d'animaux.

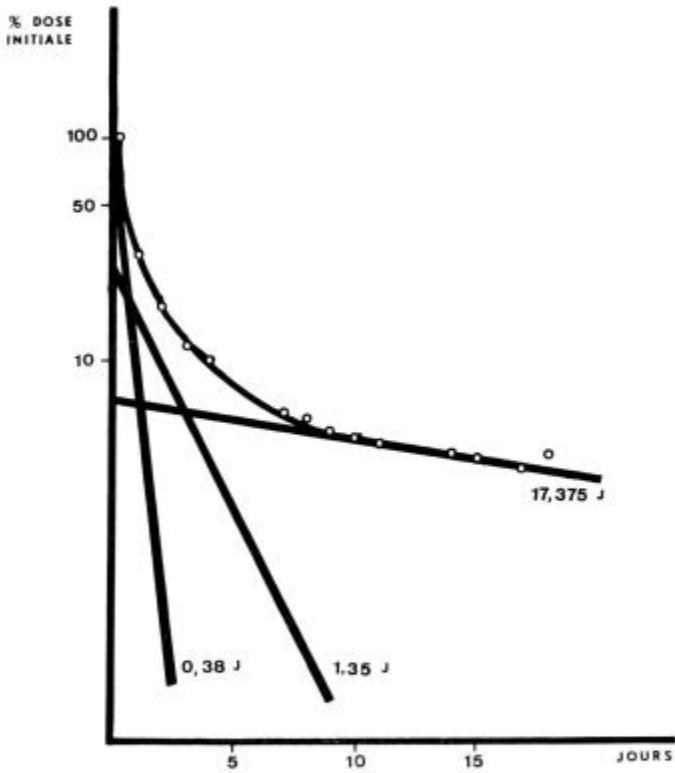


FIG. 2. — Décroissance en fonction du temps de la concentration en Fer 59 d'eau de mer contenant des animaux.

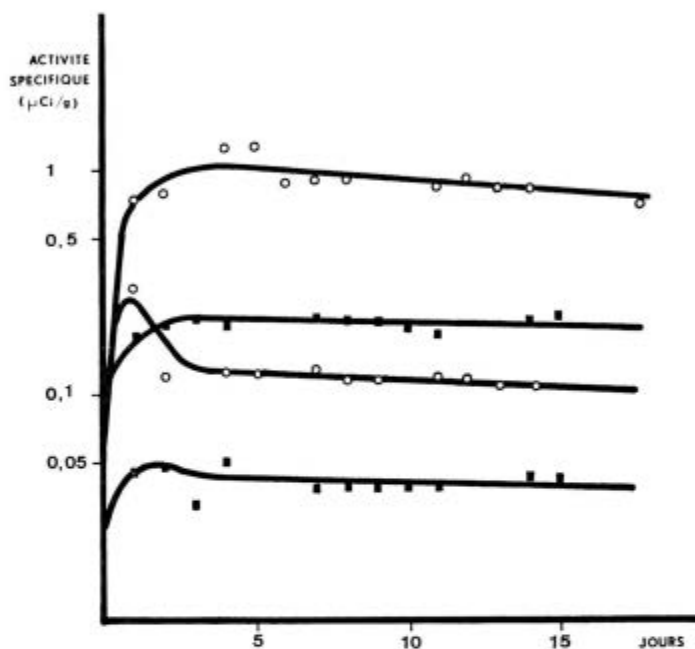


FIG. 3. — Activité spécifique en fonction du temps de *Microcosmus Sp.* contaminés par le Fe 59.

- 10 initiaux sans entraîneur :
 classe (1 à 2 g) : courbe du haut vers 1
 classe (60-70 g) : courbe du bas vers 0,1
 4 initiaux sans entraîneur :
 classe (3 à 4 g) : courbe du haut, vers 0,2
 classe (60-70 g) : courbe du bas, vers 0,04

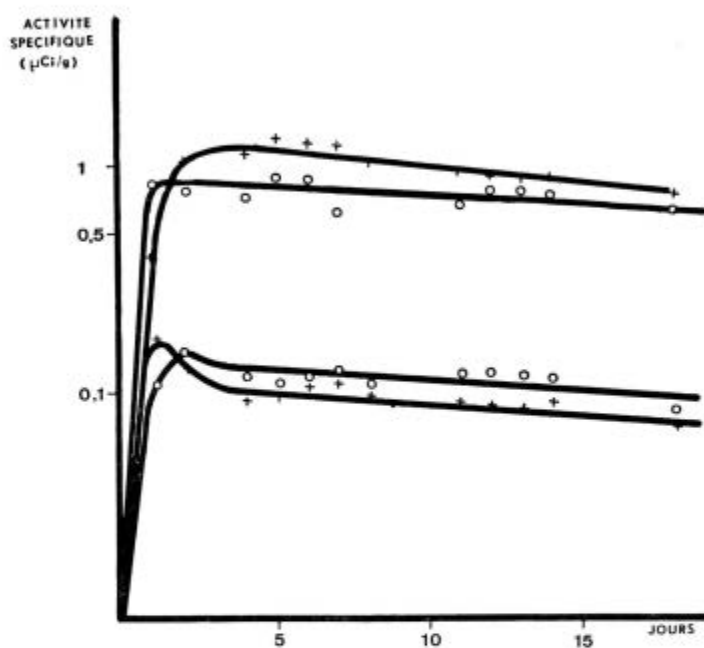


FIG. 4. — Activité spécifique en fonction du temps de *Microcosmus Sp.* contaminés par le Fer 59.

10 initiaux; entraîneur : 0,6 mg de Fer 56
 classe (1 à 2 g) : courbe du haut, vers 1
 classe (85-95 g) : coupe du bas, vers 0,1
 10 initiaux; entraîneur : 1,2 mg de Fer 56
 classe (1,5 à 2,5 g) : courbe du haut, vers 1
 classe (80-90 g) : courbe du bas, vers 0,1

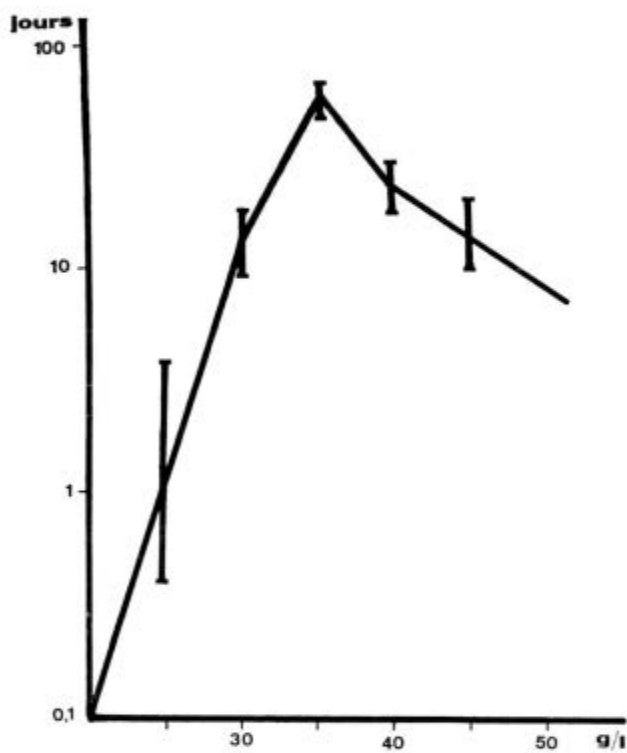


FIG. 5. — Espérances de vie $\frac{T}{0,693} \frac{1}{2}$ de *Microcosmus Sp.* en fonction de la salinité, dans nos conditions expérimentales.

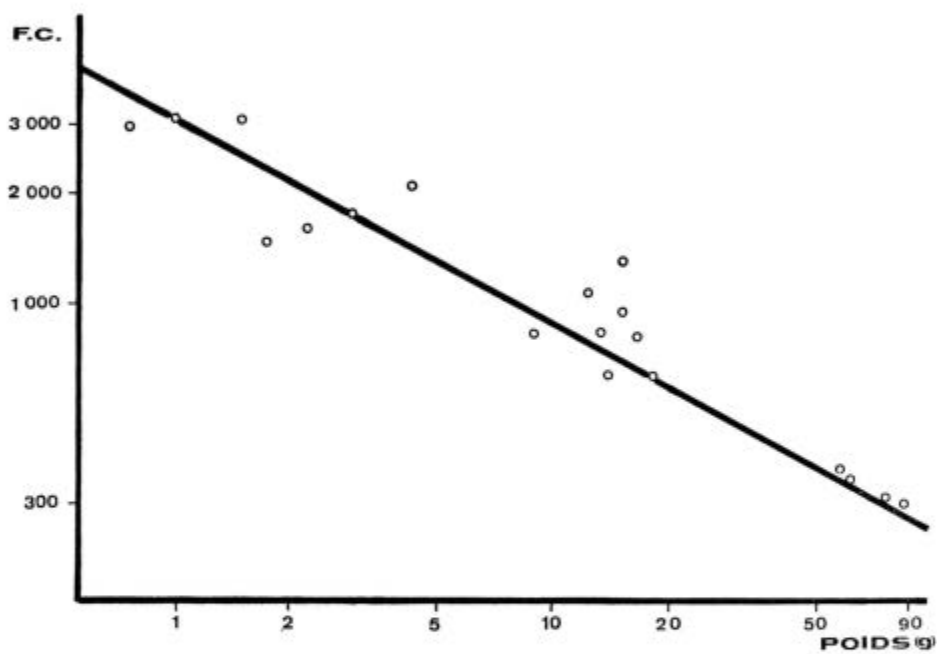


FIG. 6. — Facteurs de concentration à l'équilibre en fonction du poids de *Microcosmus Sp.* par le Fer 59.

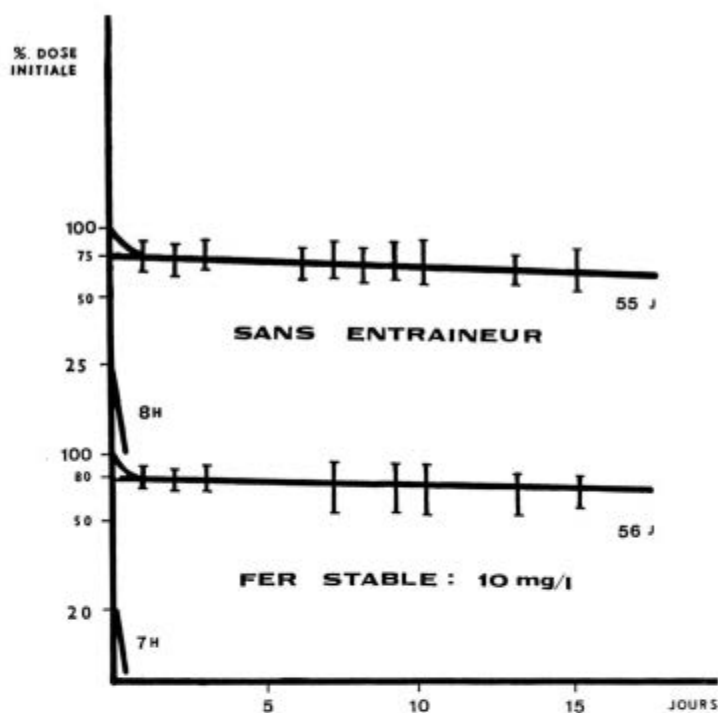


FIG. 7. — Décroissance biologique, corrigée de la décroissance du Fer 59, en fonction du temps, d'animaux de diverses tailles, contaminés et décontaminés dans des conditions différentes de concentration en Fer 56.



FIG. 8. — Autohistodiagraphie de *Microcosmus Sp.* contaminés par le Fer 59.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] AVERGUES M., JAMMET H. Etude du site marin de La Hague dans la perspective du rejet d'effluents radioactifs. In : Disposal of radioactive wastes into seas, oceans and surface waters, Vienna, May 1966, A.I.E.A., Vienne 1966, pp. 787-796.
- [2] BÉNARD F. Données écologiques à recueillir dans la perspective de l'étude de l'influence des rejets en mer de déchets radioactifs. In : Université de Caen et C.E.A., Ed., Colloque de radioécologie marine, Cherbourg, avril 1964.
- [3] LEANDRI M., CHARREL J. Essais de décontamination expérimentale de coquillages méditerranéens pollués par les eaux rendues radioactives. *Rev. Hyg. Méd. soc.*, **11**, 411-416, 1963.
- [4] LEANDRI M., CHARREL J., OMEZ D. Etudes sur la contamination expérimentale de certains coquillages méditerranéens de consommation courante. *Rev. Hyg. Méd. soc.*, **11**, 401-410, 1963.
- [5] LEANDRI M., OMEZ D. Etude de la contamination radioactive (iode-131) et de sa répartition sur les diverses parties de deux mollusques bivalves méditerranéens. *Presse médicale*, n° 51, 2910-2917.
- [6] LEANDRI M., BATTANI N., CHAMBOST M.D. Etude de la contamination par l'iode-131 et le fer 59 de *Ciona Intestinalis* Linné (Tunicier). 3^e Colloque intern. d'océanographie médicale, CERBOM, Nice, septembre 1966. *Rev. intern. Océanogr. méd.*, **11**, 71-86, 1968.
- [7] LEANDRI M., BATTANI N., BOISDON M. Th., CHAMBOST M.D. Etude de la contamination radioactive par l'iode-131 et répartition de ce radionucléide dans les diverses parties du corps de *Microcosmus Sp.* *Radioprotection*, **2**, 287-295, 1967.
- [8] KEYCHUM B.M., BOWEN V.T. Biological factors determining the distribution of radioisotopes in the sea. In : Proceedings of the 2^d intern. conference on the peaceful uses of atomic energy, Geneva, 1958, **18**, 429-433, 1958.
- [9] AUBERT M., GAMBAROTTA J.P., LAUMOND F. Etude de la répartition du fer au large des côtes de Provence et de Corse, étude de la dispersion des apports terrigènes. *Rev. intern. Océanograph. méd.*, **5**, 23-63, 1967.
- [10] FONTAINE M., HALLOPEAU C.I., FONTAINE Y.A. L'action biologique des rejets de résidus radioactifs en milieu marin. Université de Caen et C.E.A., Ed., Colloque de radioécologie marine, Cherbourg, avril 1964.
- [11] MICHON G. Le métabolisme des radioéléments chez les êtres marins. Université de Caen et C.E.A., Ed., Colloque de radioécologie marine, Cherbourg, avril 1964.