

**Sur le métabolisme d'un insecticide
organo-phosphoré,
le diéthylthionophosphate de 2 isopropyl 4 méthyl
6 oxyypyrimidine chez la chèvre**

par Jacques-Paul VIGNE, Jacques CHOUTEAU, Robert-Louis TABAU,
Pierre RANCIEN et Aurore KARAMANIAN (1)

M. SIMONET. — M. VIGNE me demande de présenter, en son nom et au nom de ses collaborateurs, un travail fait à la Faculté des Sciences de Marseille sur le métabolisme chez la Chèvre d'un insecticide organo-phosphoré le diéthylthionophosphate de 2 isopropyl 4 méthyl 6 oxyypyrimidine, pratiquement le Diazinon Geigy.

On sait que ces insecticides phosphorés sont assez rapidement hydrolysés dans l'organisme des animaux à sang chaud et qu'il est difficile de les retrouver dans le sang, le lait, les fèces et les urines.

M. VIGNE et ses collaborateurs ont abordé ce problème en utilisant une méthode ingénieuse. Ils ont préparé un diazinon marqué avec du phosphore radioactif. Après en avoir administré *per os* 235 mg à une chèvre en fin de lactation, ils ont mesuré la radioactivité des urines, des fèces, du sang et du lait. Cette étude montre une élimination rapide et complète du produit en 3 ou 4 jours. Seule l'élimination radioactive, d'ailleurs extrêmement faible du lait reste linéaire et correspondrait au ^{32}P provenant des réserves osseuses après métabolisme de l'insecticide. Le dosage de l'insecticide lui-même, soit par extraction, soit par la mesure de l'activité anticholinestérasique des excréments montre une élimination très minime (2 à 3 mg) de la dose totale en 4 jours, indiquant que la quasi-totalité de l'insecticide est métabolisé et le ^{32}P éliminé sous forme de phosphates organiques ou minéraux autres que l'insecticide. Ce comportement différencie nettement les insecticides organo-phosphorés des insecticides chlorés.

L'utilisation croissante des insecticides organo-phosphorés, dont on connaissait depuis les travaux de SCHRADER la remarquable activité, pose le problème de l'intoxication chronique du bétail par la consommation des végétaux contaminés. Ces composés possèdent, en effet, une toxicité non négligeable pour les animaux à sang chaud que l'on attribue à leur activité anticholinestérasique (1, 2, 3, 4). C'est pourquoi les Pouvoirs publics ont édicté des règles impératives fixant la limite de tolérance admise pour les denrées alimentaires (0,001 mg par kg aux U.S.A.). On conçoit

(1) Avec la collaboration technique de Mme C. CLOTTE, aide-technique du C.N.R.S.

que l'étude, par exemple, des possibilités éventuelles de passage de ces insecticides dans le lait impose dans ces conditions des méthodes analytiques d'une extrême sensibilité, ou conduit à faire ingérer aux animaux d'expérience des quantités considérables de produit faussant les données du problème. Nous avons mis au point une technique basée, d'une part, sur l'utilisation des isotopes radioactifs et d'autre part, sur l'étude du pouvoir inhibiteur de la cholinestérase sérique.

1. Insecticide utilisé, synthèse radioactive. (*)

Nous avons choisi le diéthylthionophosphate de 2 isopropyl 4 méthyl, 6 Oxypyrimidine (Diazinon Geigy) que nous avons préparé en faisant réagir dans un premier temps du thiotrichlorure de Phosphore (marqué au phosphore 32) (5), sur le 2 isopropyl, 4 méthyl, 6 oxypyrimidine et dans un deuxième temps le dérivé dichloré obtenu sur de l'éthylate de sodium (6). Après purification, il reste un produit huileux dont nous avons vérifié la pureté par des techniques chromatographiques (7, 8).

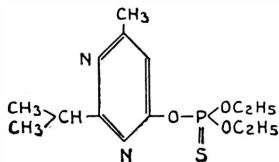
L'activité du Diazinon ainsi préparé, mesurée dans des conditions géométriques déterminées avec un compteur de Geiger Muller à fenêtre mince était de 81.000 *c/m par milligramme* au début de l'expérience.

2. Partie expérimentale physiologique.

Nous avons administré *per os* (**) 235,8 mg de Diazinon correspondant à une activité de $19,10^6$ *c/m*, à une chèvre (*Capra Hircus*) de 36,500 kg en fin de lactation produisant environ 700 ml de lait par jour.

L'animal a été placé dans une cage étroite et longue, soutenu en position debout par des sangles, le cou fixé par un carcan. Les urines ont été recueillies au moyen d'un tube de caoutchouc adapté à un entonnoir en polytène taillé de façon convenable et collé à la vulve par du collodion et du ruban adhésif. Les fèces sont dirigées

(*) Formule :



(**) Insecticide absorbé sur du galactose et placé dans deux cachets de pain azyne enrobés de miel pour masquer l'odeur désagréable du produit et éviter une régurgitation immédiate.

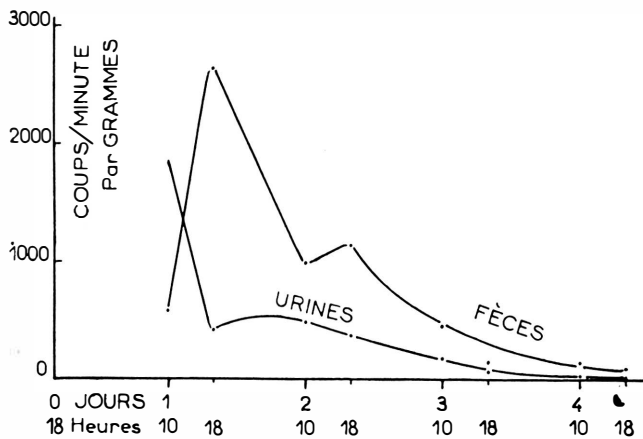
par une gouttière dans un récipient séparé. Le sang est prélevé par ponction jugulaire et le lait par traite manuelle. Ces prélèvements ont été effectués régulièrement deux fois par jour pour le lait, les urines et les fèces et une fois par jour pour le sang. L'animal en bonne santé a reçu avant et pendant les expériences, qui se sont déroulées dans une pièce à température sensiblement constante, une nourriture constituée par du foin sec à volonté, de l'herbe fraîche en quantité raisonnable et de l'eau.

3. Résultats.

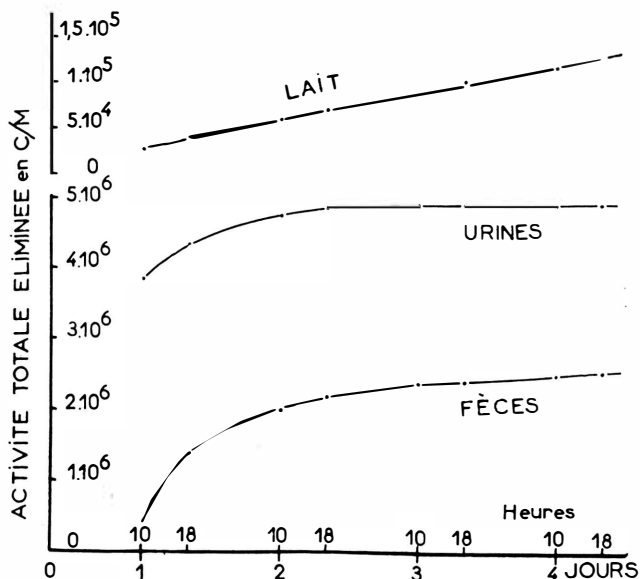
Deux séries d'expériences faites à un mois d'intervalle sur le même animal avec des doses analogues de produit radioactif ont donné des résultats concordants. Les échantillons ont été mesurés dans des conditions géométriques identiques. Le tableau I résume les résultats d'une expérience et les chiffres indiqués tiennent compte des corrections dues à la décroissance radioactive et à la sensibilité des compteurs.

TABLEAU I

Les courbes de la figure 1 indiquent l'activité par gramme et par prélèvement des urines et des fèces, l'activité du lait et du sang est comparativement négligeable.



Les courbes de la figure 2 représentent l'élimination du produit radioactif dans les urines, les fèces et le lait. On peut constater que si l'élimination dans les urines et les fèces tend asymptotiquement vers un plateau, par contre, l'élimination dans le lait quoique beaucoup moins importante en valeur absolue, est totalement



différente et pratiquement linéaire. Nous pensons que ce comportement particulier est dû à l'élimination par cette voie de phosphates radioactifs provenant des réserves osseuses après métabolisme de l'insecticide.

4. *Origine du phosphore radioactif éliminé.*

Nous avons montré dans une note précédente (9) que contrairement à ce que pensaient certains auteurs, le Diazinon présente une activité anticholinestérasique importante. Nous avons donc, parallèlement aux mesures de la radioactivité, dosé l'insecticide dans les prélèvements par leur action inhibitrice sur l'activité cholinestérasique du sérum de cheval.

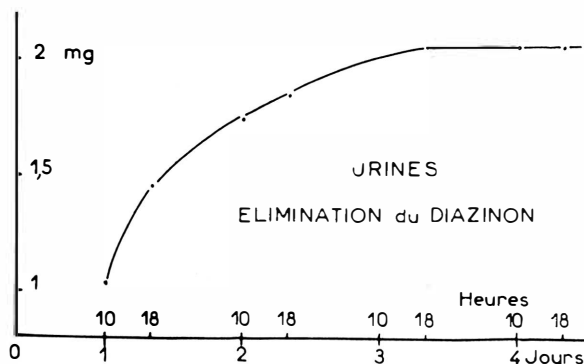
Cette dernière est obtenue par une méthode potentiométrique (10) et les pourcentages d'inhibition ont été calculés en rapportant les activités obtenues avec le même sérum de cheval avant administration de Diazinon.

Nous avons vérifié l'absence d'activité cholinestérasique et inhibitrice propre des urines, du lait, du plasma et des fèces de chèvre.

Les activités et les inhibitions sont indiquées dans les colonnes 1 et 2 du tableau II. En comparant ces inhibitions à celles données dans les mêmes conditions par des dilutions de Diazinon pur, on peut en déduire la quantité d'insecticide présente dans la prise d'essai (colonne 3). Enfin la colonne 4 représente la quantité totale de Diazinon contenue dans le prélèvement.

TABLEAU II

La comparaison des tableaux I et II montre qu'en ce qui concerne le lait, les fèces et le plasma, la radioactivité ne peut être rapportée à l'insecticide administré mais à d'autres composés phosphorés de son métabolisme. Pour l'urine seulement, nous trouvons une élimination faible et rapidement décroissante n'excédant pas 2 mg, soit moins du 1/100 de la quantité totale de Diazinon ingérée par l'animal (fig. 3).



Pour vérifier ce fait, nous avons effectué pour les échantillons de lait, d'urine et de fèces les plus radioactifs, la séparation du phosphore minéral et organique par des méthodes classiques d'extraction. Nous avons pu constater que l'on ne retrouve pas de Diazinon dans le lait, que dans les fèces on peut mettre en évidence des traces d'insecticide (0,3 μ g/gr au maximum) et qu'enfin dans les urines on peut extraire une quantité de Diazinon plus importante qui n'excède pas toutefois 1,084 mg. Dans cette série d'expériences, le dosage du Diazinon, soit par son activité anticholinestérasique, soit par sa radioactivité a toujours donné des résultats parfaitement concordants.

5. Conclusion.

D'après ce qui précède, nous pouvons conclure que contrairement aux insecticides chlorés, les insecticides organo-phosphorés sont très rapidement métabolisés dans l'organisme, que l'on n'en retrouve pratiquement pas dans le sang, le lait et les fèces et seulement des quantités minimales dans les urines de l'animal en expérience.

(Laboratoire des Isotopes du Centre de lutte contre le Cancer et Laboratoire de Physiologie générale de la Faculté des Sciences de Marseille. Travail exécuté avec l'appui matériel de l'Institut National d'Hygiène.)

TABLEAU I

Jours	Heures des prélèvements	URINES				FÈCES				LAIT				SANG	
		Poids	Activité par Gramme	Activité Totale	Somme de l'Activité éliminée	Poids	Activité par Gramme	Activité Totale	Somme de l'Activité éliminée	Poids	Activité par Gramme	Activité Totale	Somme de l'Activité éliminée	Poids	Activité par Gramme
0 Administration de 235,8 mg de Diazinon à 18 h															
1	10	2.050	1.900	3.826.000	3.826.000	740	585	433.000	433.000	560	50	28.000	28.000		
	18	1.240	413	513.500	4.339.000	360	2.630	940.000	1.373.000	235	56	13.200	41.200	10	24,2
2	10	780	475	369.000	4.708.000	590	987	582.000	1.955.000	450	43	19.300	60.500		
	18	340	371	126.500	4.834.000	190	1.130	215.000	2.170.000	200	58	11.500	72.000	10	10,8
3	10	657	183	120.000	4.954.000	590	441	260.000	2.430.000	465	56	25.900	97.900		
	18	510	62	31.400	4.986.000	255	142	36.300	2.466.300	235	31	7.400	105.300	10	0
4	10	325	34	11.100	4.997.000	734	144	106.000	2.572.300	525	26	13.600	118.900		
	18	435	15	6.430	5.003.000	250	89	22.100	2.594.300	237	30	7.100	126.000	10	0

TABLEAU II

Jours	Heures	LAIT			URINES					FÈCES			PLASMA		
		Activité cholines-térasique	% d' inhibition	Diazinon éliminé	Activité cholines-térasique	% d' inhibition	Diazinon (prise γ d'essai 3 ml)	Mg Diazinon par prélèvement	Quantité Totale Diazinon éliminé	Activité cholines-térasique	% d' inhibition	Diazinon éliminé	Activité cholines-térasique	% d' inhibition	Diazinon éliminé
		1	2	3	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3
0	10	52			45					45			48,55		
1	10	52,25	0	0	24,75	45	1,52	1,038	1,038	44,25	0	0	47,75	0	0
	18	51,25	0	0	35	22	1,03	0,425	1,463	42	0	0			
2	10	52,25	0	0	32,75	27	1,06	0,275	1,738	43,25	0	0	48,25	0	0
	18	51,25	0	0	37,75	16	0,94	0,106	1,844	45,25	0	0			
3	10	50,25	0	0	36,25	19,5	0,97	0,212	2,056	44,75	0	0	48,25	0	0
	18	51,25	0	0	42,75	5	0,03	0,005	2,061	46	0	0			
4	10	49,25	0	0	44,75	0	0	0	2,061	44,75	0	0	46	0	0
	18	50,5	0	0	43	4,5	0,03	0,005	2,065	45	0	0			

BIBLIOGRAPHIE

1. HEYMANS (C.). — *Exposés annuels de Biochimie Médicale*, 1951, **12**, 21-53.
2. HAZLETON (C W.). — *Agricultural and Food chemistry*, 1955, **3**, 312-318.
3. METCALF (R L.) et MARCH (R B.). — *J. Econ. Ent.* 1950-**43**-670.
4. CHOUTEAU (J.), VIGNE (J-P.), KARAMANIAN (A.) et TABAU (R-L.). — *C R. Soc. Biol.* Sous presse Séance du 19-10-56, Marseille.
5. VIGNE (J-P.), TABAU (R-L.) et FONDARAI (J.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1956, 459, et *Bull. Soc. Pharmacie Marseille*, 1955, **16**, 335.
6. VIGNE (J-R.), TABAU (R-L.) et FONDARAI (J.) — *Bull. Soc. Chim. France*, 1956, 460, et *Bull. Soc. Pharmacie Marseille* 1955, **16**, 336.
7. VIGNE (J-P.), TABAU (R-L.) et FONDARAI (J.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1955, 1282, et *Bull. Soc. Pharmacie Marseille*, 1956, **17**, 52.
8. VIGNE (J-R.), TABAU (R-L.) et FONDARAI (J.). — *Bull. Soc. Pharmacie Marseille*, 1956, **17**, 55.
9. CHOUTEAU (J.), VIGNE (J-P.), KARAMANIAN (A.) et TABAU (R-L.). — *C. R. Soc. Biol.* Sous presse, Séance du 19-10-56, Marseille.
10. CHOUTEAU (J.), RANCIEN (P.) et KARAMANIAN (A.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1956, Séance du 28-5-56, Marseille, **38**, 1329.