

APPLICATIONS DE LA MÉTHODE DE DOSAGE PAR ACTIVATION NEUTRONIQUE EN GÉNÉTIQUE MÉDICALE

(Recherche des éléments constituant les os, les dents et les cheveux)

par

Elise PEETERS*

et

J. CATOIRE

1. Introduction

Comme on le sait, certaines maladies héréditaires sont la traduction de la perturbation d'un cycle métabolique.

La compréhension de ces phénomènes chimiques et biologiques est facilitée, dans une grande mesure, par l'analyse des éléments, constituants de l'organisme.

Un fossile ou un organisme mort depuis longtemps nous lègue uniquement ses cheveux, ses os et ses dents.

Dans le cadre des recherches d'anthropologie et de génétique humaine, nous étudions la composition des cheveux, des os et des dents chez les êtres normaux et chez ceux qui sont atteints d'affection héréditaire.

La concentration, la diminution, l'augmentation, l'absence d'un élément suscite de nouveaux schémas de recherche et de nouvelles hypothèses. De même, la présence d'un élément que, normalement, on ne s'attendrait pas à trouver, peut aiguiller le chercheur sur une nouvelle voie.

Avant d'entreprendre l'analyse systématique et la comparaison avec des êtres normaux, des différents éléments constituant les restes d'organismes morphologiquement atteints de maladies héréditaires (datant parfois de plusieurs centaines d'années), nous avons procédé

(*) Communication présentée le 22 novembre 1965.

à une étude systématique d'échantillons provenant d'êtres normaux.

La méthode que nous préconisons est l'analyse par activation aux neutrons. Chaque élément présent est activé et, grâce à cette radioactivité induite, nous pourrions le caractériser par son schéma de désintégration. Ceci revient à identifier chaque radionucléide présent par ses énergies de rayonnement gamma et par sa période.

Notre but est donc l'étude complète des spectres gamma émis par chaque échantillon activé.

2. Quelques généralités sur les notions de physique nucléaire

Cet exposé ne retrace pas les étapes merveilleuses, gravées dans l'histoire, de la découverte du monde nucléaire par Roentgen, Becquerel, Pierre et Marie Curie, Rutherford et tant d'autres pionniers de cette science nouvelle.

Leur travail illustre leur courage, leur persévérance et leur génie.

Nous souhaitons simplement donner un tableau clair et concis des notions nucléaires essentielles.

1. STRUCTURE DE L'ATOME

Les atomes qui caractérisent chaque élément sont formés d'un noyau central lourd et doté d'une charge électrique positive. Autour de ce noyau gravitent des électrons qui, dans le cas de l'atome neutre, équilibrent exactement la charge du noyau. Tous les phénomènes de chimie et de physique classiques correspondent aux transformations où n'intervient que le cortège électronique tandis que la physique nucléaire se préoccupe du noyau central. Lorsqu'un atome perd un électron de la couronne périphérique, il acquiert une très grande réactivité chimique ; il est ionisé et a un rôle fondamental dans les effets biologiques.

L'énergie transmise à la matière par les particules produit des excitations et des ionisations de l'atome. L'ionisation d'un atome consiste en la perte d'un de ses électrons de la couronne périphérique ; en perdant, un électron cet atome se charge positivement mais son noyau n'est pas modifié.

L'électron qui est expulsé de l'atome par une autre particule emporte une fraction de l'énergie incidente ; son départ modifie la

couronne périphérique de l'atome et se traduit par une émission de rayons x d'énergie correspondante.

Il faut souligner que les rayons x et les rayons gamma sont de nature ondulatoire identique ; ils ont cependant une origine différente. En effet les rayons x résultent d'un réarrangement du cortège électronique de l'atome, tandis que les rayons gamma sont émis par le noyau lui-même.

2. STRUCTURE DU NOYAU

Le noyau est composé surtout de 2 types de particules : protons et neutrons. Le proton est porteur d'une charge élémentaire positive choisie comme unité.

La masse du proton est très proche de celle du neutron ; celui-ci est dépourvu de toute charge. Neutrons et protons sont liés dans le noyau par des forces d'échange attractives qui peuvent être très élevées et compensent les forces répulsives de nature électrique ; celles-ci s'exercent entre les particules chargées : les protons.

Un radionucléide est caractérisé par les nombres suivants :

Z : Le nombre atomique qui correspond à la charge électrique du noyau c'est-à-dire au nombre de protons caractéristique de l'élément.

A : Le nombre de masse (nombre total de particules du noyau, en l'occurrence les neutrons et les protons) qui correspond à peu près à son poids atomique.

$N = A - Z$: correspond au nombre de neutrons.

Si M est le symbole de l'élément considéré, on représente un nucléide par le symbole suivant :



ainsi par exemple l'élément stable sodium s'écrit : Na_{11}^{23} , soit 11 protons et 12 neutrons.

Les isotopes d'un nucléide sont caractérisés par un même nombre atomique mais possèdent des masses différentes. Les atomes auxquels ils correspondent ont les mêmes propriétés chimiques.

3. RADIOACTIVITÉ

La radioactivité est la transformation de la configuration nucléaire d'un élément.

Ceci signifie qu'un atome radioactif possède un noyau qui tente d'atteindre un état plus stable soit par émission de rayonnement, soit par émission de particules.

On distingue trois types de rayonnements principaux qui sont dans l'ordre de leur découverte :

1° *Les rayons alpha* qui sont des particules chargées positivement (noyau d'hélium). Ils sont très ionisants et facilement absorbés (une feuille de papier les arrête). Le noyau d'hélium porte deux charges électriques positives et une masse 4, composée de deux protons et deux neutrons.

2° *Les rayons bêta* : particules chargées (électrons positifs ou négatifs) d'origine nucléaire. Ils sont beaucoup plus légers que les précédents et moins ionisants.

Les électrons positifs sont appelés couramment positons.

3° *Les rayons gamma* d'origine électromagnétique ; à haute énergie ils sont très pénétrants. Leur absorption dans la matière provoque une ionisation par effet secondaire. Elle est moins importante pour les alpha et bêta.

Nous avons volontairement négligé les nombreuses autres particules nucléaires, afin de ne pas surcharger cet exposé.

4. CARACTÉRISATION D'UN ISOTOPE

Chaque nucléide radioactif est caractérisé par sa demi-vie ou période, la nature, le nombre et l'énergie des rayonnements émis et éventuellement les relations temporelles (notamment la simultanéité) existant dans l'émission des rayonnements successifs.

La période d'un radionucléide est le temps nécessaire pour que la moitié des noyaux de cet isotope initialement présent soient transformés.

Les divers processus de désintégration radioactive sont les suivants :

a) *émission de rayons bêta négatifs* : le noyau émet un électron et un neutrino (le neutrino est une particule de masse très faible et de charge nulle ; ces interactions sont tout-à-fait négligeables dans les cas qui nous occupent). Ceci correspond à une transformation dans le noyau d'un neutron en un proton. Si l'atome résiduel est dans un état excité, il y a en outre émission de rayons gamma.

- b) *émission de rayons bêta positifs* : dans ce cas le noyau émet un positron, un neutrino et éventuellement des rayons gamma. Ici il s'agit de la transformation d'un proton du noyau en un neutron ; la charge du noyau résiduel est alors diminuée d'une unité, sans variation pratique de la masse.
- c) *capture k* : le noyau capture un électron de la couche électronique k de l'atome ; ceci entraîne une diminution d'une unité de la charge du noyau mais sans changement de masse appréciable.
- d) *transition isomérique* : certains noyaux peuvent rester dans un état excité pendant une durée appréciable. La transition vers un niveau stable se fait par émission de rayonnement gamma.
- e) *conversion interne* : le rayonnement gamma émis par le noyau (surtout pour de très faibles énergies) est capturé par un électron de la couronne périphérique des couches K, L ou M dans l'ordre des probabilités décroissantes. Après l'absorption de cette énergie, cet électron est éjecté de l'atome avec une vitesse égale à celle du rayonnement gamma absorbé moins l'énergie de liaison de l'électron : il n'y a pas de variation de charge du noyau.
- f) *radioactivité alpha* : le noyau émet une particule alpha ce qui entraîne une diminution de charge de deux unités et de quatre unités pour la masse. Il peut y avoir simultanément émission de rayonnement gamma.

5. RADIOACTIVITÉ ARTIFICIELLE

On peut provoquer artificiellement la transformation d'un noyau en lui apportant de l'énergie par des rayonnements très énergétiques, par des particules chargées ou par des neutrons.

Ainsi la désintégration nucléaire peut être produite et contrôlée par l'homme. Rutherford et ses collaborateurs mirent ce phénomène en évidence, pour la première fois, en bombardant des atomes légers par des particules alpha.

Les accélérateurs de particules et les réacteurs atomiques jouent un rôle important : la production d'une grande quantité de transmutations en dépend. Ces instruments permettent de produire des éléments radioactifs qui ne se trouvent pas dans la nature tels que le cobalt 60 d'une période de 5 ans, le césium 137 d'une demi-vie de 30 ans, et bien d'autres.

6. RÉACTIONS NUCLÉAIRES

Lorsqu'on bombarde un élément ou un nucléide avec des particules nucléaires ou avec un rayonnement électromagnétique de haute énergie, il est possible d'obtenir des réactions nucléaires qui provoquent des modifications du noyau lui-même, c'est-à-dire des transmutations ; les noyaux formés sont souvent radioactifs.

La notation usuelle des réactions nucléaires est la suivante : noyau cible (projectile, particule émise) noyau résultant.

Par exemple : $Al^{27} (n, p) Mg^7$

L'aluminium 27 est un isotope stable, il se transforme en Mg^7 , radioactif par la capture d'un neutron et l'émission d'un proton.

Notons que les réactions nucléaires sont de 3 types :

- 1) *Les transmutations* : Un noyau se transforme en un autre, soit de la même espèce, soit d'une autre.
- 2) *Les fissions* : provoquent le craquage des noyaux en 2 ou plusieurs fragments (exemple : fission de l'uranium).

La bombe atomique n'est autre que l'application d'une réaction de fission qui s'emballe et est dite « en chaîne ». Dans les réacteurs, il s'agit de réactions de fission « contrôlées ».

- 3) *Les fusions* : on réalise actuellement la fusion de 2 noyaux légers (ils se soudent l'un à l'autre). Il faut évidemment un apport d'énergie énorme. Par exemple, l'énergie d'une bombe A amorce la bombe H dont la puissance est très supérieure (fusion H).

7. SECTION EFFICACE

Les réactions nucléaires sont soumises à des conditions énergétiques. Lors de la pénétration de particules chargées dans le noyau, ou de leur émission par celui-ci, elles doivent surmonter une barrière de potentiel électrostatique. Les neutrons, démunis de toute charge, ne sont pas soumis à cette restriction ; ce sont les principaux agents de réactions nucléaires.

La probabilité pour qu'une réaction donnée ait lieu entre une particule incidente et une particule cible dépend formellement d'une quantité appelée *section efficace* de la réaction.

L'unité couramment utilisée pour les réactions nucléaires est le

barn (10^{-24} cm²). Celle-ci équivaut à la surface géométrique du noyau telle qu'on peut se l'imaginer.

8. RADIOACTIVITÉ NATURELLE

Les noyaux de certains isotopes sont instables et éjectent des particules, en général des électrons et parfois des alpha. Ces réarrangements nucléaires sont presque toujours accompagnés de l'émission de rayons gamma d'énergies différentes.

Tous les radioisotopes d'une série sont présents dans la nature puisqu'ils se forment et disparaissent continuellement. Il existe 4 chaînes de familles radioactives. Les diverses familles naturelles aboutissent toutes à des isotopes du Plomb.

Les 4 séries sont les suivantes : Thorium, Neptunium, Uranium-Radium et Uranium-Actinium.

(Signalons que la série du Neptunium ne se trouve plus dans la nature, la demi-vie du Neptunium 237 étant courte par rapport à l'âge de la terre. Cependant, actuellement on le fabrique artificiellement).

On a également découvert d'autres éléments radioactifs à l'état naturel et possédant une longue demi-vie. Un exemple : le potassium 40 dont la période est de $1,5 \cdot 10^9$ années.

9. DÉTECTION DES RADIATIONS NUCLÉAIRES

Distinguons les particules chargées (alpha, bêta, etc...), les photons (rayons ultra-violets, rayons x et rayons gamma) et les particules neutres (neutrons).

Les effets produits par les photons et les neutrons sur les substances traversées sont sensiblement les mêmes. En effet, les rayons gamma créent sur leurs trajectoires des électrons qui finalement dissipent l'énergie, tandis que les neutrons réagissent avec la matière et forment par réaction nucléaire, le plus fréquemment des particules chargées (par exemple des alpha).

Les rayonnements nucléaires sont observés par les effets qu'ils produisent tout au long de leurs trajectoires. Les appareils qui permettent de les détecter, de mesurer leur énergie et leur intensité, sont fondés sur l'étude de l'interaction des particules chargées avec les gaz, les cristaux ou les liquides qu'elles traversent. Le problème se ramène à l'étude du ralentissement de ces particules chargées

dans la matière, ou de leur perte d'énergie lorsqu'elles traversent un milieu matériel (diffusion, absorption).

10. EFFETS CHIMIQUES INDUITS PAR LES RADIATIONS NUCLÉAIRES

L'énergie transmise à la matière par les particules produit des excitations et des ionisations de l'atome.

L'ionisation de l'atome est la perte d'un de ses électrons orbitaux. Il devient chargé positivement puisque le noyau n'est pas modifié. L'électron ainsi éjecté transporte une partie de l'énergie de la particule incidente, il finit presque toujours par être arrêté au niveau d'une couche électronique superficielle d'un autre atome pour former une molécule à charge négative.

D'autres cas sont possibles. Par exemple, lorsque les radiations ionisantes traversent les molécules d'eau, il y a formation de radicaux libres. Les structures sont très réactives du point de vue chimique. Il s'agit essentiellement d'atomes qui ne possèdent pas un arrangement électronique stable. Un radical libre est un ensemble électriquement neutre, dans lequel un ou plusieurs électrons manquent pour que la couche externe ait une configuration stable. Les radicaux libres ne peuvent exister que pendant un temps extrêmement court. Leur « durée de vie » dépend de la nature des autres substances présentes et de leur concentration.

Le radical hydroxyle OH est important : il a perdu un électron, par conséquent, il est devenu électriquement neutre mais extrêmement réactif (on écrit OH[•]).

3. Analyse par radioactivation

Rechercher des traces d'éléments aussi faiblement concentrées qu'elles échappent aux analyses chimiques est le rôle de l'analyse par radioactivation. Les avantages de la précision et de la sensibilité de cette méthode dans le domaine des parties par billions sont considérables.

C'est aux savants de Hevesy et Levy que revient le mérite d'avoir défini en 1936 le principe de l'analyse par activation. Cependant, ce n'est qu'au cours de ces dernières années que cette technique s'est rapidement développée grâce à la multiplication des réacteurs et au développement croissant des méthodes de détection des rayonnements.

Le principe de l'analyse par activation est très simple puisqu'il consiste à irradier l'échantillon par un flux de particules ou de photons d'énergie suffisante pour réagir avec les noyaux constituants. Chaque élément qui réagit est activé et grâce à cette radioactivité induite nous pourrions le caractériser par son schéma de désintégration.

Nous analysons l'émission des rayonnements gamma d'échantillons activés. Chaque radionucléide est identifié par son spectre gamma et sa période.

Cette méthode permet l'étude des échantillons par un moyen non destructif; ceci peut être important dans les cas d'enquêtes légales où l'échantillon peut toujours servir à de nouvelles vérifications.

Ainsi, par activation, ces éléments devenus radioactifs peuvent être identifiés et dosés. La certitude de l'absence ou de la présence d'un oligoélément et son dosage peuvent susciter de nouvelles hypothèses fructueuses dans bien des problèmes demeurés jusqu'à ce jour sans solution. Le mode de détection que nous avons choisi pour l'identification des éléments est la scintillographie, dont le principe est fondé sur l'absorption du rayonnement par le milieu scintillant.

Cette transformation convertit le rayonnement nucléaire en une impulsion électrique, son amplitude est une information directe de l'énergie du rayonnement incident. Dans les problèmes qui nous préoccupent nous étudions la conversion des rayons gamma.

Que ce soit en spectrométrie gamma, bêta ou alpha, la détermination des énergies de rayonnement se ramène donc à l'analyse des amplitudes des spectres d'impulsions électriques formées par l'intermédiaire des compteurs à scintillations. Le nombre d'impulsions récoltées par le scintillateur est proportionnel à l'intensité de la source radioactive.

Ainsi pour l'étude des spectres complexes de plusieurs éléments, l'électronique associée au compteur à scintillations devra permettre l'enregistrement d'informations nombreuses et simultanées. C'est pourquoi l'étude des spectres d'énergie gamma nécessite souvent un analyseur à multicanaux.

Dans l'activation neutronique il faut distinguer :

1. IRRADIATIONS AUX NEUTRONS THERMIQUES

Dans ce cas, le flux de neutrons est produit par un réacteur ou par une pile atomique ; les flux peuvent atteindre des intensités très élevées (jusqu'à 10^{11} n/sec/cm²). Les neutrons thermiques favorisent principalement les réactions dites de capture, c'est-à-dire du type (n, γ) . Un avantage appréciable des neutrons thermiques dans l'analyse par activation : la section efficace accuse des variations parfois très grandes et caractéristiques d'un isotope à l'autre. D'une façon générale pour des masses atomiques faibles, les sections efficaces sont de l'ordre du millibarn (mb), tandis que pour les éléments lourds, elles peuvent atteindre des valeurs de l'ordre de 10^5 barns. On peut noter que le libre parcours moyen des neutrons est assez grand ; ceci permet l'irradiation de quantités importantes de substance et, dans les cas favorables, de doser avec précision des éléments en concentration très faible.

En général, l'activation dans les réacteurs implique l'étude d'éléments à périodes assez longues, étant donné le temps perdu à partir de la sortie des échantillons du réacteur et le commencement des mesures de détection gamma. Dans certains cas cependant, l'analyse d'éléments de périodes courtes se pratique facilement grâce au voisinage immédiat du réacteur.

2. IRRADIATIONS AUX NEUTRONS RAPIDES DE 14 MEV

Un avantage : permettre le dosage d'éléments peu activables dans une pile ou encore l'activation de radioéléments à périodes très courtes.

De nombreux progrès, ces dernières années, ont apporté une vaste gamme de générateurs de neutrons à des prix compétitifs compris entre un et deux millions de francs belges. Ces appareils sont simples et comportent principalement un accélérateur de particules dont l'énergie peut varier de 150 à 400 Kev.

Ici, l'encombrement de l'échantillon à irradier ne pose pratiquement pas de problème ; ce n'est pas le cas dans les réacteurs.

Cet appareil peut donner des flux de neutrons rapides jusqu'à 10^{10} et parfois 10^{11} neutrons par seconde.

Grâce à un modérateur adéquat, on peut obtenir également des neutrons thermiques mais ceci pour des flux beaucoup plus faibles que dans les réacteurs. Un générateur de neutrons rapides aura un

rendement en flux thermique de l'ordre de 10^5 neutrons par seconde et cm^2 .

L'intérêt du dosage de traces d'éléments en anthropologie est indéniable. Des traces peuvent atteindre des niveaux dangereux et expliquer l'une ou l'autre maladie.

L'analyse par activation au service de l'anthropologie est certes un point important dans cette science si vaste qu'est l'étude de l'homme.

4. Schéma expérimental

A la séance inaugurale du colloque tenu à Saclay en 1963 sur l'analyse par radioactivation, le professeur Meinke, célèbre pour ses travaux en ce domaine, avait illustré cette méthode par un schéma très simple constitué en 4 points : (colloque de Saclay, septembre 1963).

- 1) envoi de l'échantillon scellé vers la source de neutrons.
- 2) irradiation.
- 3) extraction de l'échantillon, transfert vers un support propre pour rapide séparation chimique en cas de nécessité.
- 4) transfert vers le détecteur et mesure des radiations.

A ce schéma global, nous pourrions ajouter une cinquième étape importante mais qui serait en fait la première : la préparation de l'échantillon avant son envoi à la source de neutrons.

5. Spectrométrie gamma

Un spectre gamma est une courbe donnant la distribution (nombre relatif) des impulsions lumineuses après conversion en signaux électriques par intervalles de ces signaux, c'est-à-dire par intervalles d'énergies. L'ordonnée correspond donc au nombre d'impulsions dans un temps déterminé d'amplitude donnée par l'abscisse (C. BROOKE et E. PEETERS, 1964).

La figure numéro 1 montre le principe de fonctionnement d'une installation de spectrométrie gamma avec un sélecteur d'amplitudes à une voie.

La figure numéro 2 donne le schéma de principe d'un analyseur d'impulsions à canaux multiples.

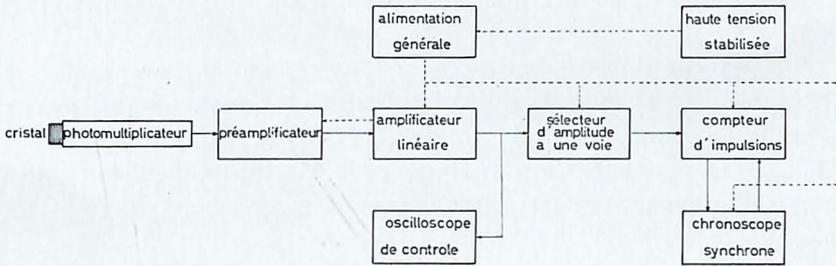


FIG. 1.

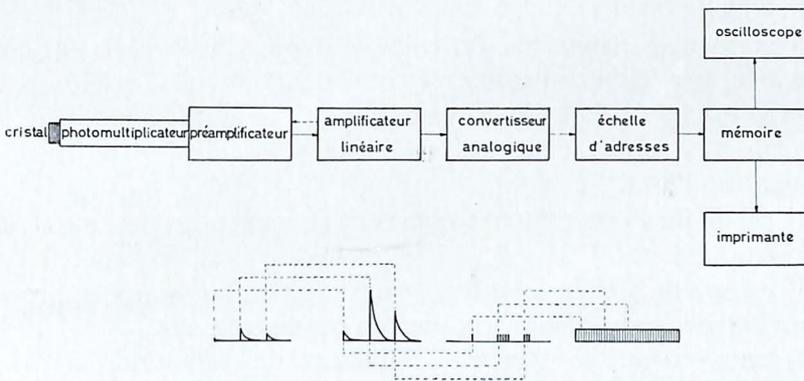


FIG. 2.

L'organe essentiel de cette chaîne est le compteur à scintillations qui se compose principalement d'un cristal et d'un photomultiplicateur.

Nous n'insisterons pas ici sur les multiples possibilités d'analyse des spectres complexes émis par un échantillon activé. A partir d'un spectre de plusieurs éléments, on peut différencier ceux-ci par soustraction des spectres simples. On dépouille une multitude de raies qui interfèrent et qui proviennent d'isotopes différents.

Pour les déterminations absolues de quantités de traces dans les échantillons, on peut faire appel soit à la méthode du « standard », soit aux étalons internationaux. Dans notre laboratoire, nous avons recours à la première méthode qui permet des mesures relatives et élimine des erreurs de matrice, géométrie et fluctuations du flux de neutrons lors de l'irradiation : ce standard est irradié en même temps que les échantillons.

Si les échantillons et les standards sont activés séparément, les mesures sont cependant normalisées pour un flux déterminé de neutrons.

6. Les os

Notre laboratoire étudie actuellement par cette méthode les éléments composant les os.

Nous espérons établir une différence entre les constituants des os d'êtres normaux et ceux des os d'achondroplases.

Cette différenciation sera pour un élément déterminé, soit qualitative, soit quantitative.

Le tableau ci-dessous donne la composition minérale des os (Symposium de Salzbourg, septembre 1964).

Élément		Élément	
A	—	Li	—
Ag	0,01	Mg	4.000
Al	7,5	Mn	0,3
As	0,3	Mo	—
Au	—	N	45.000
B	—	Na	5.000
Be	—	Ni	2,5
Ba	2	P	120.000
Br	7	Pb	6
C	8.000	Ra	$0,6 \times 10^{-8}$
Ca	260.000	Rb	—
Cd	—	S	—
Cl	2.700	Sc	0,001
Co	5	Se	—
Cr	—	Si	—
Cs	0,14	Sn	6
Cu	6	Sr	30
F	1.500	Ti	—
Fe	200	U	0,016
Ga	—	V	1
Hg	0,1	W	—
I	—	Y	0,04
K	900	Zn	150
La-Lu	10		

(Les valeurs sont en p.p.m.).

La préparation des échantillons avant l'irradiation est une étape simple puisqu'elle consiste en un trempage des os dans l'alcool pendant 24 heures, suivi du séchage et du broyage dans un mortier. La poussière d'os ainsi obtenue est pesée dans des récipients de polyéthylène ou de perspex.

Nous avons veillé à obtenir des échantillons de poussière homogène. Cependant, nous avons constaté lors du broyage des os, une nette différence de structure entre un os achondroplase et un os normal. En effet, l'os achondroplase présentait une structure nettement plus poreuse que l'os normal. Pour une même grandeur, l'os achondroplase est plus léger.

1. IRRADIATION PAR UN FLUX DE NEUTRONS THERMIQUES

Les éléments de longue période ont été déterminés par une irradiation de 10 heures dans le réacteur B.R.I. de Mol en flux de neutrons thermiques, d'une série d'échantillons d'os normaux.

Le temps perdu entre l'extraction des échantillons du réacteur et l'arrivée des échantillons au laboratoire à Bruxelles pour les mesures de spectres, est trop long pour permettre la détection d'éléments d'une demi-vie courte.

Les premiers spectres tracés après la sortie du réacteur permettent d'identifier outre le Na^{24} très abondant d'une période de 15 heures, le Mn^{56} d'une période de 2,58 heures, celui-ci étant caractérisé principalement par une raie gamma d'énergie 0,84 Mev (figure n° 3). Quelques jours plus tard (figure n° 4), lorsque le Na^{24} avait décréu, on voyait apparaître d'autres éléments tels que le Br^{82} confirmé d'une part par sa période de 35 heures et d'autre part par ses énergies gamma de 0,55 et 0,77 Mev. Quelques semaines plus tard (figure n° 5) ces échantillons révélaient la présence de Zn^{65} de 245 jours et du Fe^{59} de 45 jours et soulignaient la probabilité d'un élément de longue période caractérisé par une raie à 0,80 Mev, en l'occurrence l'antimoine 124.

Ces premiers résultats offrent beaucoup d'espoir et montrent les énormes possibilités de cette technique dans le problème qui nous préoccupe.

C'est pourquoi nous pouvons envisager l'étude de plusieurs échantillons d'os simultanément, pour la détermination d'éléments à longues périodes. Ainsi avec une bonne statistique nous pourrions dresser des listes comparatives d'éléments constituant d'une part les os normaux, d'autre part les os d'achondroplase.

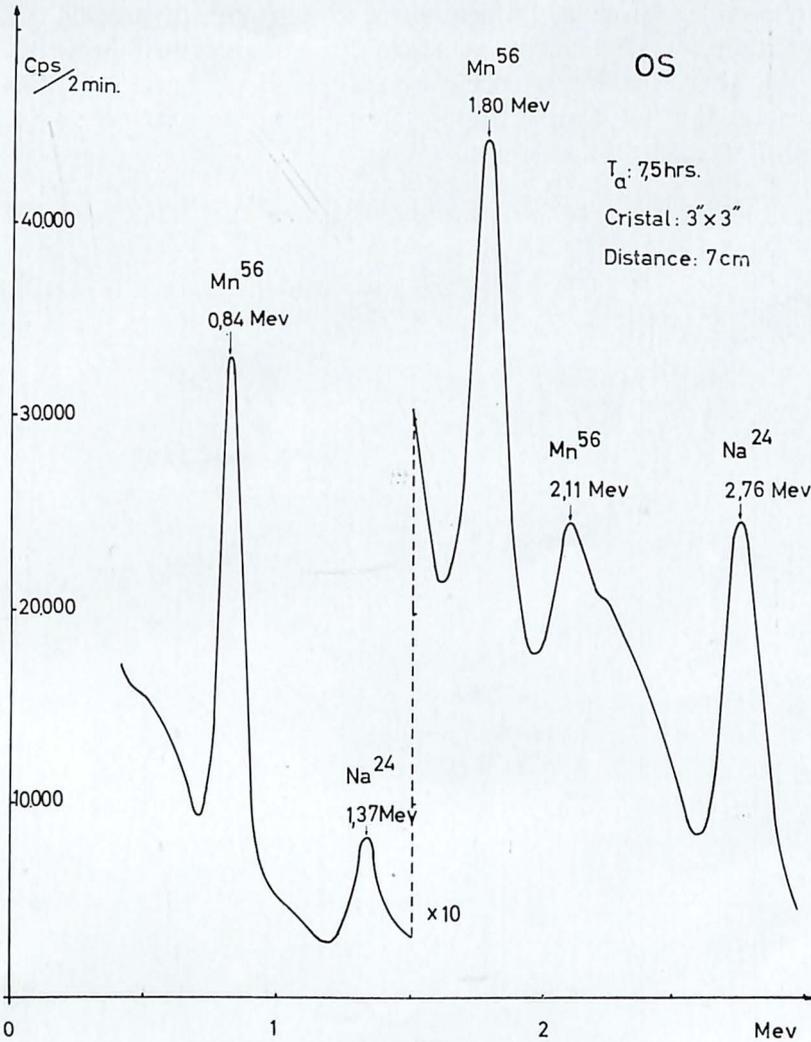


FIG. 3. — Spectre des rayonnements gamma émis, 7,5 heures après l'extraction de l'échantillon du réacteur.

2. IRRADIATION PAR UN FLUX DE NEUTRONS RAPIDES

Les échantillons ont été soumis à un flux de neutrons rapides produit par la réaction $T(d,n)\alpha$ dans un accélérateur de particules du type Cockcroft-Walton. Cette réaction libère des neutrons de 14 Mev, avec un rendement approximatif de $5 \cdot 10^7$ à 10^8 neutrons

par seconde. En effet, les deutons accélérés tombent sur une cible de tritium, et par réaction nucléaire il y a production d'un neutron de 14 Mev et d'une particule alpha, cette dernière étant absorbée dans la cible ou dans le support, tandis que le neutron est émis isotropiquement dans l'espace.

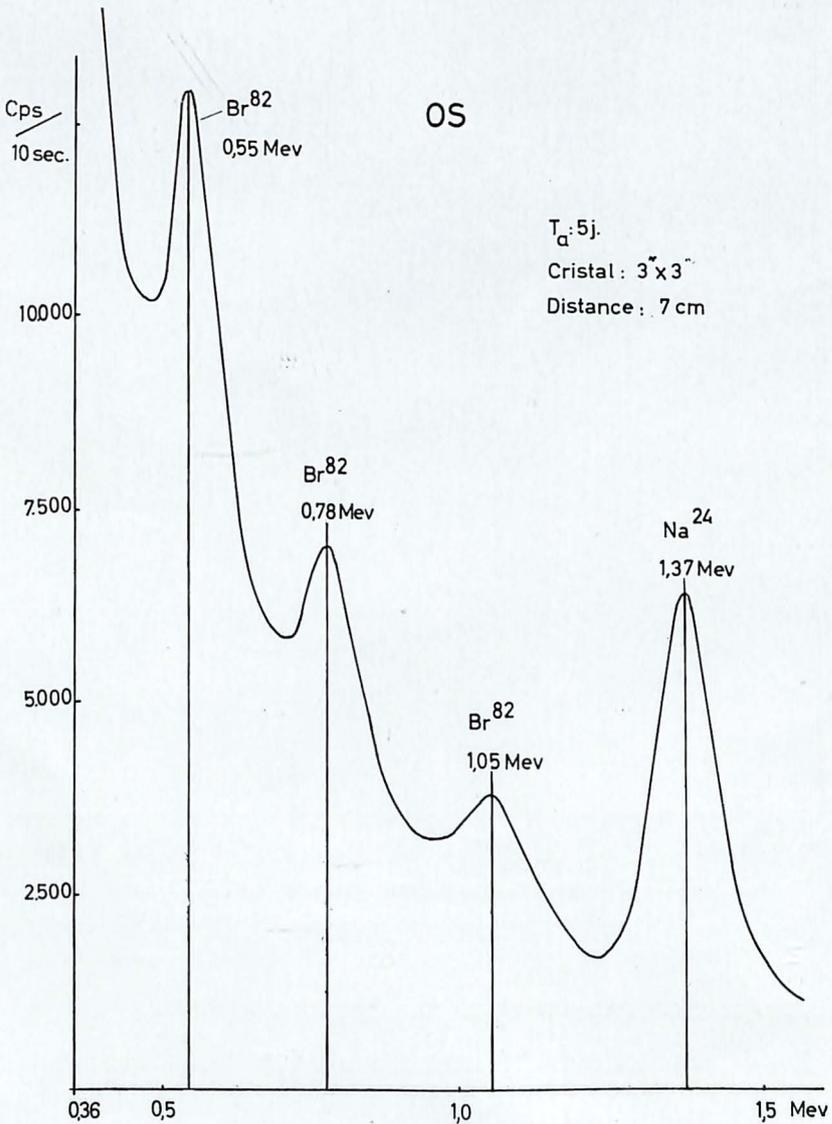


FIG. 4. — Spectre des rayonnements gamma émis, 5 jours après l'extraction de l'échantillon du réacteur.

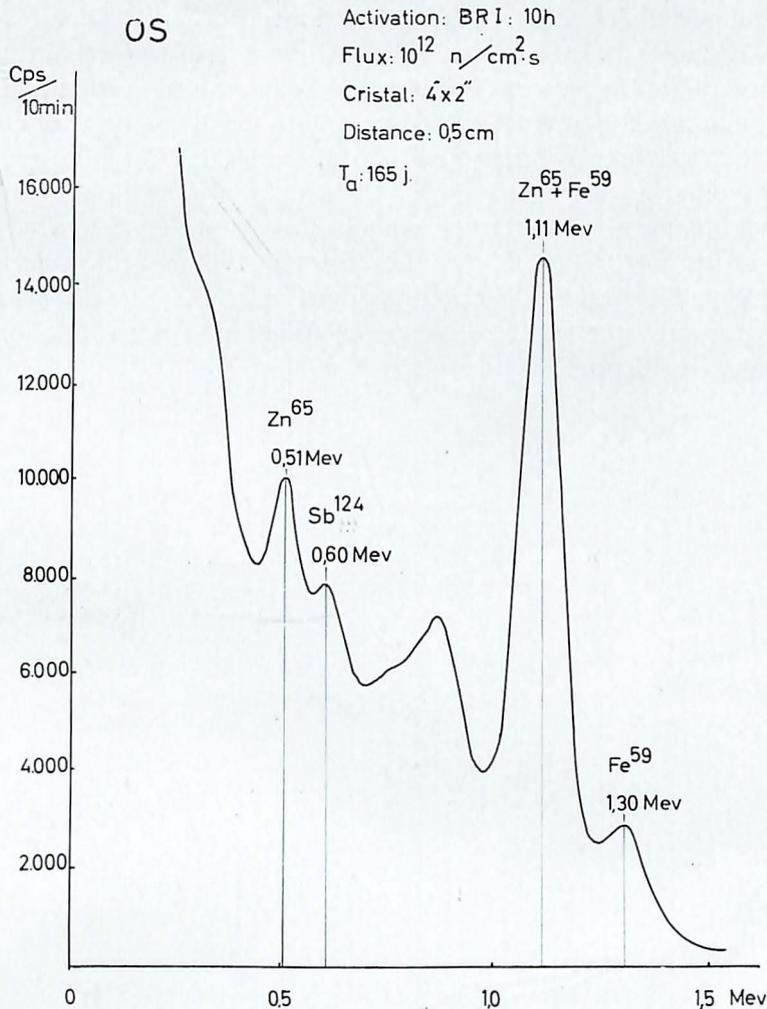


FIG. 5. — Spectre des rayonnements gamma émis, 165 jours après l'extraction de l'échantillon du réacteur.

Nous avons essayé des durées d'irradiation variant de 5 minutes à 8 heures et demie. Celles-ci nous ont permis de mettre en évidence d'une façon qualitative, la présence de sodium en quantité très abondante, ainsi que du calcium et du potassium (figure n° 6).

Nous avons procédé ensuite à une série d'irradiations systématiques de 20 minutes d'échantillons normaux et d'échantillons

d'achondroplases, ainsi que d'un standard de 1 gr. de silicium pur, afin de doser la quantité de silice contenue dans les échantillons.

A cette fin, nous avons utilisé une échelle multiple à commutation automatique qui permet la détermination des demi-vies des radio-nucléides et nous avons trouvé une moyenne de 57 p.p.m. de silicium dans les os.

Soulignons que cette teneur en silice a pu être évaluée avec une erreur de l'ordre de 10 %. Les figures ci-jointes illustrent premièrement les essais d'irradiation dans le réacteur et les spectres obtenus ainsi que les décroissances des raies et la détermination du dosage en silicium. (figures n° 3, 4, 5, 6 et 7).

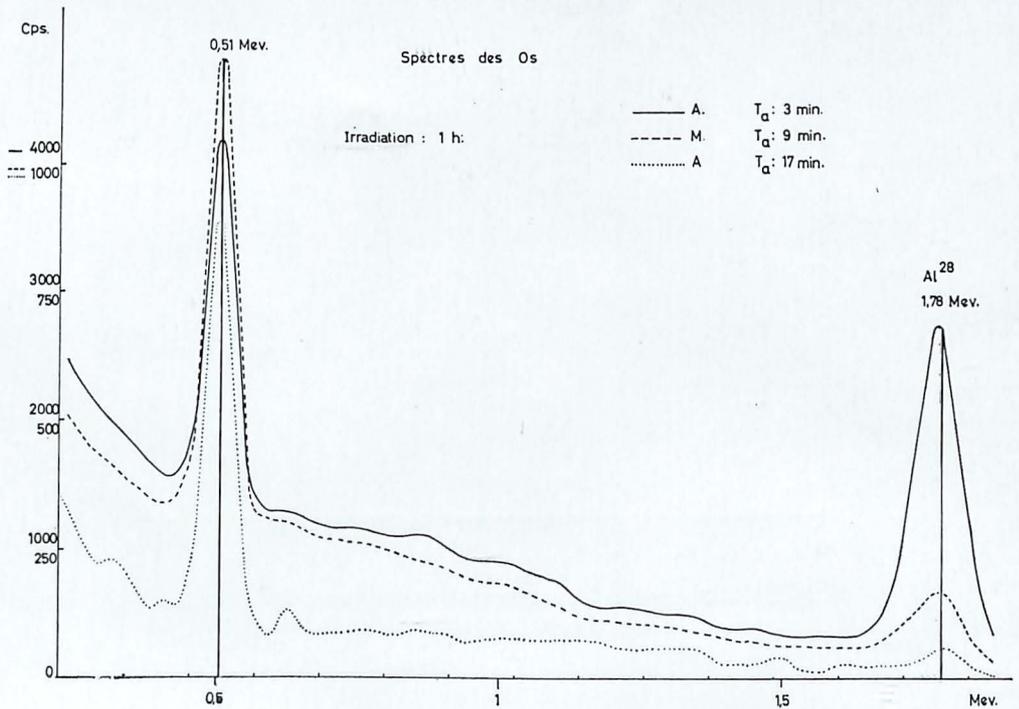


FIG. 6. — Irradiation d'os par neutrons rapides de 14 Mev pendant une heure : os achondroplase (A) et os normal, métacarpien (M). Les spectres illustrent la formation d' Al^{28} d'une période de 2,3 minutes, respectivement 3, 9 et 17 minutes (T_a) après la fin de l'activation.

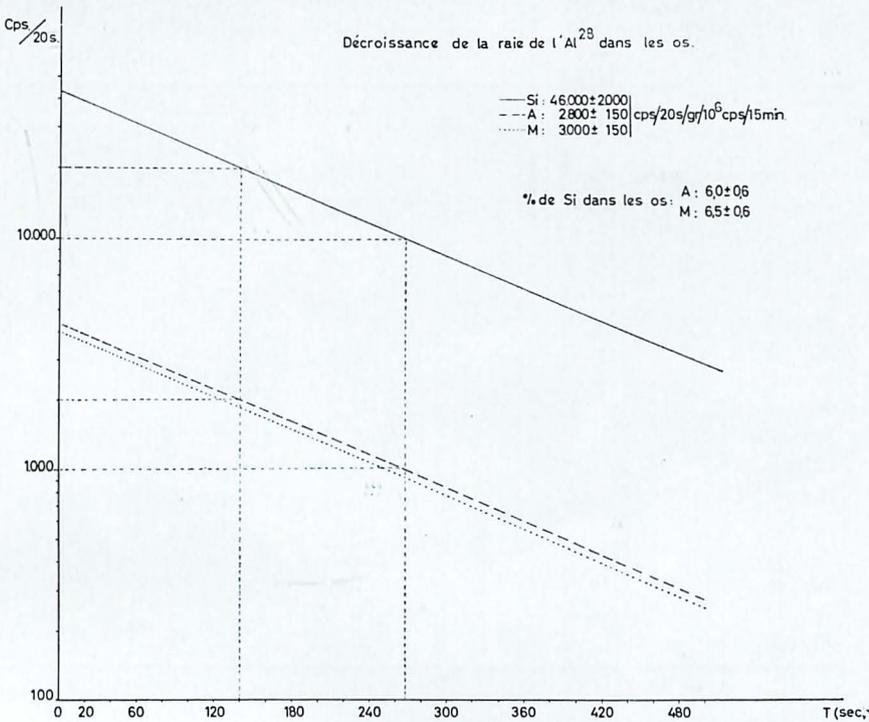


FIG. 7. — Cette figure montre la décroissance de l' Al^{28} produit successivement dans l'échantillon de silicium pur (Si), dans l'os achondroplase (A), et dans l'os normal (M), métacarpien.

7. Les dents

Une maladie héréditaire et de nombreuses affections qui ont été contaminées in utero, se manifestent par des malformations dentaires. Les dents de fossiles présentent également parfois des particularités anatomiques pathologiques qui restent des points d'interrogation.

L'analyse de leurs éléments et oligo-éléments comparée à la teneur de ces mêmes constituants de dents saines est importante et ouvre un champ d'hypothèses et d'investigations.

Nous poursuivons actuellement les analyses de dents de fossiles dans le cadre de la génétique médicale.

Voici, à titre d'indication, un tableau des constituants des dents tels qu'ils se présentent classiquement (H. SICHER, 1962).

	Email	Dentine	Cément
eau	2,3%	13,2%	32%
matières organiques	1,7	17,5	22
cendre	96,0	69,3	46
<i>Par 100 gr de cendre</i>			
calcium	36,1 gr	35,3 gr	35,5 gr
phosphore	17,3	17,1	17,1
dioxyde de carbone	3,0	4,0	4,4
magnésium	0,5	1,2	0,9
sodium	0,2	0,2	1,1
potassium	0,3	0,07	0,1
chlore	0,3	0,03	0,1
fluor	0,016	0,017	0,015
soufre	0,1	0,2	0,6
cuivre	0,01		
silicium	0,003		0,04
fer	0,0025		0,09
Zinc	0,016	0,018	
		Dent entière	os
plomb		0,0071 à 0,037	0,002 à 0,02
Traces de : Ce, La, Pr, Ne.			
Ag, Sr, Ba, Sn, Mn, Ti, Ni, Al, B, Cu.			
Li, Se.			

Les dents sont un matériau d'une analyse plus facile. Une dissolution chimique permet les études chromatographiques associées à l'activation neutronique.

La faible teneur en sodium évite les difficultés d'interférence avec les autres éléments à déterminer et la saturation néfaste des détecteurs.

8. Les cheveux

L'activation neutronique montre que les cheveux se distinguent par la nature des éléments qu'ils contiennent ou par la proportion de ces derniers. Guin, Jervis et d'autres ont démontré que

cette particularité permet de déterminer si des cheveux considérés comme pièces à conviction ont un lien avec le crime ou le suspect, ce qui complète utilement l'arsenal des moyens d'identification au nombre desquels figurent aussi les empreintes digitales. Comme les cheveux sont une pièce à conviction que l'on trouve fréquemment sur les lieux de crime (généralement dans les mains de la victime ou sur l'instrument de l'agression), l'analyse par activation présenterait une très grande utilité dans les enquêtes criminelles.

Si la préparation des échantillons d'os à irradier ne présente pas de problème complexe, il n'en est pas de même en ce qui concerne la préparation des cheveux pour l'irradiation. Une discussion s'impose avant l'exposé des premiers résultats.

Au colloque tenu à Saclay en 1963 sur l'analyse par activation, à la suite de la conférence faite par le professeur Lenihan de Glasgow (les traces d'éléments dans les maladies humaines), le professeur Guinn de San Diego avait souligné l'importance du problème de la préparation des échantillons. Le professeur Lenihan reconnut que c'était là une question très ardue. Il rappela les travaux du Docteur Smith de Glasgow dans ce domaine : celui-ci avait tenté de vérifier la décontamination extérieure des cheveux en les rinçant avec une solution de soude caustique à 10 %.

Il est bien connu que de simples rinçages de cheveux peuvent enlever une grande partie de leurs propres éléments minéraux. Le but de leurs expériences était le dosage de l'arsenic dans les cheveux afin de mettre en évidence une intoxication éventuelle. C'est ainsi qu'ils firent leurs essais de mise au point sur des cheveux normaux ; ils y découvrirent une teneur énorme d'arsenic. Ces cheveux étaient ceux de jeunes femmes qui travaillaient dans les laboratoires et qui ne prenaient aucun médicament à base d'arsenic ; aussi ont-ils cherché l'origine de cette contamination. L'enquête mit en évidence un point important : ces femmes lavaient toutes leurs cheveux avec le même détergent contenant 70 p.p.m. d'arsenic.

Il s'agit ici d'une contamination externe et la vérification fut aisée : le premier jour après le lavage, les cheveux analysés contenaient une dose énorme d'arsenic. Une quinzaine de jours plus tard la dose était retombée à un niveau normal.

En 1964, lors de notre participation au congrès de Salzbourg sur

les méthodes radiochimiques d'analyse, la même question fut posée après l'exposé du professeur Lima du Brésil (réf. n° 4).

Le Docteur Lima avait souligné dans ses travaux les avantages de la méthode par activation, vu la grande sensibilité de la technique, sa spécificité et le fait qu'il s'agit d'une méthode non destructive qui permet de conserver l'échantillon comme preuve judiciaire.

Lors des discussions qui suivirent son exposé, le professeur Albert de Paris recommanda la prudence dans les conclusions à tirer des résultats obtenus, étant donné l'extrême importance de la préparation des cheveux avant l'irradiation. On peut dire que les propos échangés à ce sujet furent très passionnés. Mais chacun resta sur des positions fort divergentes.

Il semble que, dans ce domaine, tout reste à faire. Un but : arriver à une méthode générale de préparation des cheveux ; mais il faudra repenser chaque cas en tenant compte des conditions de contamination possible et du but que l'on poursuit.

Actuellement, nous faisons une série de vérifications sur une grande échelle de préparations d'échantillons différentes et en analysant également l'eau de rinçage ou le solvant utilisé, par analyse par activation, afin d'y détecter les oligo-éléments qui ont quitté les cheveux.

Nos premiers travaux portaient sur la détection du cuivre et du fer et leur dosage.

La concentration de ces deux éléments dans les cheveux est tellement faible (de l'ordre de quelques dizaines de p.p.m.) que les méthodes chimiques actuelles éprouvent beaucoup de difficultés à les doser. C'est pourquoi nous avons choisi l'analyse par activation neutronique.

Les échantillons utilisés sont des cheveux coupés. Nous n'avons donc analysé ni le bulbe, ni le follicule pileux où se passent la formation de la croissance et la pigmentation du cheveu, avec tout ce que cela comporte de processus à concentrations différentes d'éléments. Dans le bulbe on trouve beaucoup plus de potassium et de magnésium, ainsi que des phosphates de calcium et des sulfates.

a) PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

L'examen d'une liste des constituants des cheveux montre une grande abondance de chlore et de soufre. Lors d'une activation aux neutrons thermiques dans un réacteur, ces deux éléments

activés vont saturer les détecteurs et empêcher la détection des autres isotopes formés (voir tableau n° 1, ci-dessous).

TABLEAU I

Constituants des cheveux en p.p.m. (Radioactivation Analysis, 1963).

Élément		Élément	
Al	30	Mn	1
As	0,4	Ni	6
Br	5	P	800
Ca	200	Pb	20
Cl	20.000	S	38.000
Co	15	Ti	3
Cr	2	U	0,1
Cu	70	Zn	150
Fe	136		

Nous avons donc choisi la méthode par calcination. En effet, en calcinant les cheveux (à poids constants) dans un four à 850°, le chlore est éliminé en grande partie sous forme de sels volatils.

Les échantillons ont été sélectionnés avec beaucoup de soins, afin d'avoir la certitude qu'ils soient naturels et non teints (cheveux non contaminés par du fer et du cuivre provenant de l'extérieur, par exemple, lors de l'application de permanente à froid).

Après calcination, les résidus ont été pesés dans de petites capsules en polyéthylène scellées.

b) CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

Les échantillons ont été irradiés pendant 3 heures dans le réacteur B.R.I. de Mol dans un flux de neutrons thermiques de 10^{12} neutrons par seconde et cm^2 . A notre demande, les échantillons avaient été enveloppés dans une feuille de cadmium, afin de réduire le flux de neutrons rapides d'un facteur 1.000 au moins. Ceci dans le but de défavoriser les réactions de type (n, p) , (n, α) et $(n, 2n)$.

Le second stade de l'expérience consiste en une analyse complète de spectrométrie gamma. Ces spectres ont été déterminés dans notre laboratoire à Bruxelles avec une installation comportant un sélecteur d'amplitude à 400 canaux Intertechnique et un enregistreur graphique. Tous les calculs de dosage ont été réalisés à partir des graphiques.

c) PREMIERS RÉSULTATS

Le tableau 2 montre le dosage du cuivre, du fer et du sodium dans les divers échantillons de cheveux. Les échantillons « D » sont des cheveux de femmes, ainsi que le H₃, tandis que les E₃ et E₅ sont des cheveux d'enfants.

Les quantités sont exprimées en milligrammes par gramme de résidus minéraux résultant de la calcination de chaque échantillon. La deuxième colonne de ce tableau indique le rapport du poids du résidu de la calcination au poids des cheveux secs.

On constate que ces rapports sont très variables, bien que les conditions expérimentales soient identiques pour chaque échantillon, sauf pour le H₃ comme nous le verrons plus loin.

Cette variation de la densité minérale demande une série de vérifications chimiques. En effet, il est important de s'assurer que la préparation des cheveux avant la calcination ait une influence sur cette densité.

C'est pourquoi l'interprétation des résultats doit être limitée dans une première étape au dosage par gramme des résidus calcinés, c'est-à-dire au dosage par gramme de matière minérale.

TABLEAU II

Échantillon	Densité minérale	Poids du résidu calciné (g)	Cu (en mg par g de résidu calciné)	Fe	Na
D ₂ (gris)	0,85	0,2058	6,79	3,58	2.079
D ₅ (châtain foncé)	1,7	0,2594	2,26	1,14	177
D ₇ (blond-gris)	1,6	0,1159	1,76	5,43	131
D ₈ (noir)	2,4	0,3700	1,96	5,95	117
D ₁₃ (gris)	0,83	0,0462	5,97	8,89	7,19
E ₃ (blond vénitien)	0,29	1,1014	37,7	21,4	3.830
E ₅ (roux)	1,5	0,3010	5,95	0,732	740
H ₃ (châtain foncé)	0,85	0,3463	47,1	10,21	1,355 23

Dans ce premier exposé nous n'insisterons pas sur la technique d'analyse des spectres gamma. Nous y reviendrons lors d'une explication prochaine dans laquelle nous détaillerons d'une manière plus approfondie cette méthode. Ceci sont les premiers résultats.

En dehors du dosage du fer, du cuivre et du sodium, nous avons détecté la présence de brome, de zinc et d'or. Cette dernière découverte a un caractère important car, jusqu'à présent, aucune table ne mentionnait la présence de cet élément dans les cheveux. Cependant il ne nous a pas été possible de donner un dosage en milligrammes de ces derniers éléments, car nous ne disposions pas d'étalons adéquats.

Le tableau n° 3 donne les résultats de teneur en cuivre, fer et sodium en milligrammes par gramme de cheveux secs.

TABLEAU III

Échantillon	Densité minérale %	Cu (en milligramme par gramme de cheveux secs (0,070)*)	Fe (0,130)*	Na
D ₂ (gris)	0,83	0,056	0,029	17,25
D ₅ (châtain foncé)	1,7	0,038	0,019	2,23
D ₇ (blond-gris)	1,6	0,028	0,078	2,09
D ₈ (noir)	2,4	0,047	0,142	2,80
D ₁₃ (gris)	0,83	0,049	0,073	0,059
E ₃ (blond-vénitien)	0,29	0,109	0,062	11,10
E ₅ (roux)	1,5	0,089	0,010	11,10
H ₃ (châtain foncé)	0,85	0,400	0,086	11,51

* Valeurs données dans le tableau 1.

d) REMARQUES SUR L'ANALYSE DE L'ÉCHANTILLON H₃

Par précaution, ces cheveux de femme ont été distillés dans l'éther. En effet, l'examen à la loupe indiquait la présence d'une grande quantité d'impuretés.

L'étude des spectres gamma de cet échantillon révèle une abondance considérable de cuivre. Intrigués par ce phénomène et après vérification des manipulations, nous avons fait une enquête auprès de cette personne. C'est ainsi que nous avons appris sa profession : le limage du cuivre. Or, le cuivre que nous avons détecté se trouvait bien dans les cheveux et non dessus : ceci est confirmé par la préparation des cheveux avant la calcination.

Son activité professionnelle lui permet d'avaler ou d'inhaler de la limaille de cuivre avec ses aliments. L'abondance de cet élément dans le H₃ confirmerait donc bien l'hypothèse suivante : le type d'alimentation influence la densité minérale de la composition des cheveux de chaque individu.

Lorsqu'on calcule la quantité de cuivre par gramme de cheveux secs pour le H₃, on trouve 0,405 milligramme. Notons que le tableau n° 1 mentionnait une valeur de 0,070 mgr. L'échantillon H₃ contiendrait donc environ 6 fois plus de cuivre que la moyenne.

Tous les autres échantillons ont des valeurs pour le cuivre nettement inférieures à cet ordre.

e) GRAPHIQUES

La figure n° 8 illustre la décroissance des raies notamment aux énergies suivantes :

0,41 Mev pour l'Au¹⁹⁸ d'une période de 2,7 jours.

0,55 et 0,78 Mev attribués au Br⁸² d'une période de 36 heures.

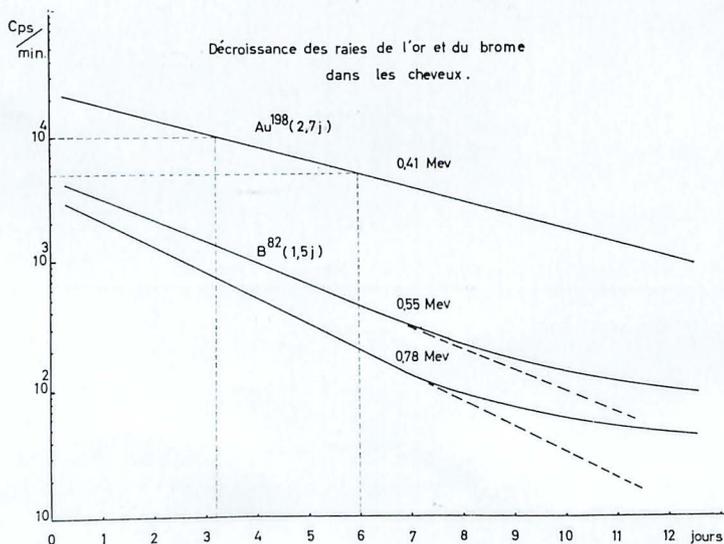


FIG. 8.

La déduction du background dans le cas de l'or est négligeable : la période ne sera pas modifiée.

La valeur expérimentale pour la demi-vie du brome 82 est de 1,74 jours. Pour ses énergies de 0,55 et 0,77 Mev, la contribution du zinc 65 d'une période de 245 jours ne reste pas négligeable. En effet, la soustraction de l'activité du zinc ramènera la période du brome 82 à 1,5 jours, soit 36 heures, valeur exacte de la demi-vie.

La figure n° 9 de l'échantillon D₅ montre encore une activité due à l'or 198 caractérisé par une raie à 0,51 Mev. Tandis que la

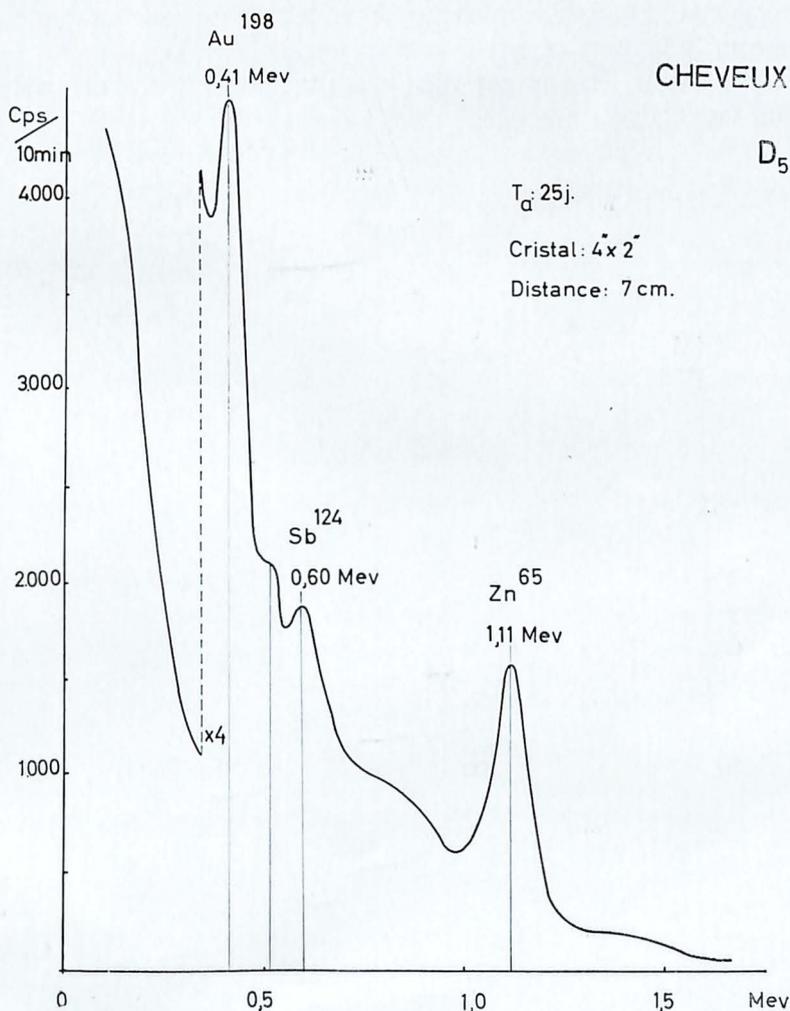


FIG. 9.

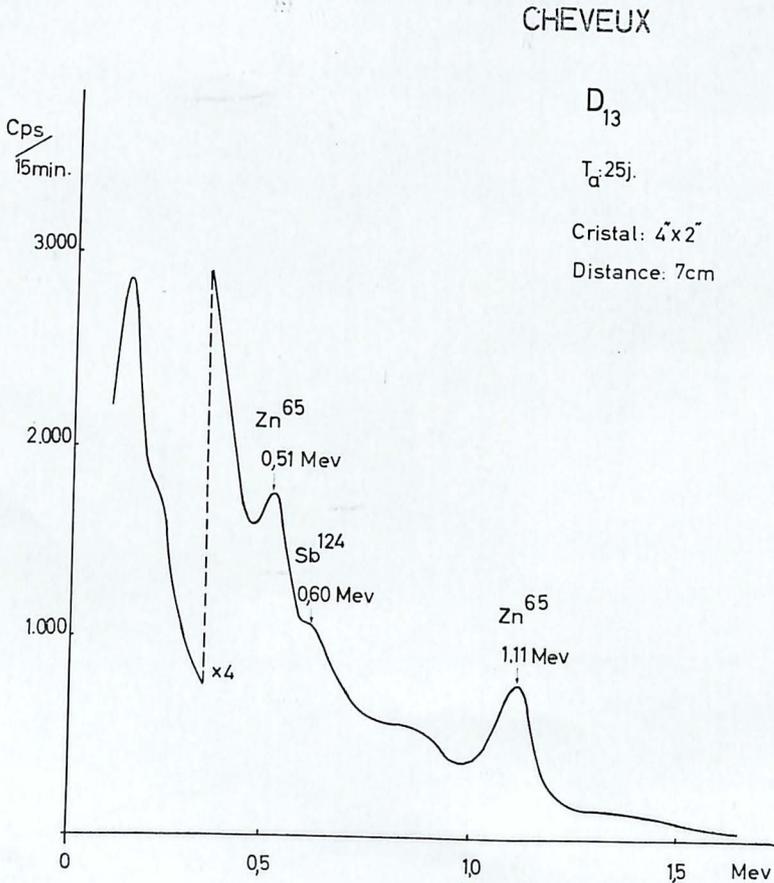
figure n° 10 du spectre de l'échantillon D_{13} montre, à cette date, principalement l'activité du zinc 65. Le zinc 65 est caractérisé par un rayonnement gamma à 1,11 Mev, ainsi qu'une faible contribution à 0,51 Mev.

La figure n° 10 du spectre gamma de l'échantillon D_{13} met en évidence les radioéléments subsistant après la décroissance de l'or.

f) CONCLUSIONS

Une anomalie lors de la calcination des cheveux gris, c'est-à-dire les cheveux d'individus plus âgés : le temps de calcination était beaucoup plus long et le résidu plus dur.

Par contraste, les cheveux d'enfants permettaient une calcination rapide et facile.



Ceci met en évidence une différence de structure du cheveu avec l'âge.

Les résultats actuels, donnés dans les tableaux 2 et 3, sont présentés sous 2 réserves qui sont encore à l'étude :

- 1) la variation de structure avec l'âge,
- 2) le tableau n° 3 indique le dosage du cuivre, du fer et du sodium par gramme de cheveux secs. L'interprétation de ces résultats demande une vérification de l'influence de la préparation des cheveux avant la calcination.

Nous pouvons conclure que l'analyse des cheveux par activation neutronique est une technique sensible et précise. Par conséquent, nous envisageons des analyses comparatives systématiques des cheveux d'individus normaux et d'individus présentant des caractères pathologiques notamment des maladies héréditaires, tel le mongolisme.

Nous avons trouvé que les cheveux pouvaient être l'objet d'une contamination externe qui avait une influence sur sa composition intime à la suite de pollutions atmosphériques.

Le problème peut être simplifié. Il nous semble qu'il serait préférable d'étudier les poils du pubis qui ont une composition similaire aux cheveux (toutefois avec une plus haute concentration d'éléments). Le poil du pubis pousse de la même façon que le cheveu, c'est-à-dire d'environ un centimètre par mois. Cependant il va atteindre sa croissance maximale beaucoup plus vite. Vers 5 cm, il entrera dans une période de repos à peu près égale à sa période de croissance ; il tombera par la suite.

De nombreuses investigations dans la préparation des échantillons de cheveux nous ont amenés à envisager la méthode suivante : allier la chromatographie sur papier à l'analyse par activation neutronique. En effet, on peut dissoudre le cheveu complètement dans une solution de thioglycolate d'ammonium. La solution est ensuite traitée par chromatographie sur papier. Ces papiers sont enroulés en pastilles et peuvent être irradiés par les neutrons ; ceci permet d'identifier les éléments présents par spectrométrie gamma. On peut également, avant l'enroulage du papier, extraire les éléments gênant les mesures, tel le sodium.

9. Conclusions

En génétique médicale, la recherche et le dosage d'oligoéléments dans les restes fossiles présentent un grand intérêt. La combinai-

son de séparation par chromatographie sur papier, associée à l'activation neutronique, apporte un progrès en anthropologie. Ces dosages peuvent se faire en grande série et sont d'une précision que n'atteignent pas les méthodes chimiques et biologiques.

Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur le Professeur F. TWIESELMANN : il nous a montré le large domaine d'application de l'analyse par activation, notamment en anthropologie et en génétique humaine.

Nous remercions Monsieur I. ELSKENS, chef de travaux à l'Université Libre de Bruxelles, qui a fait les traitements chimiques préliminaires et Monsieur A. LEGUEBE, assistant à l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique.

Monsieur R. LACROIX, du Laboratoire d'Anthropologie de l'Université Libre de Bruxelles, est notre collaborateur dans cet exposé dont il a, entre autres, fait les calculs et tracé les courbes.

Université libre de Bruxelles.
Laboratoire d'Anthropologie et de Génétique médicale.
Travail subventionné par le Fonds de la recherche scientifique médicale.
Promoteur : Professeur F. TWIESELMANN.

BIBLIOGRAPHIE

- 1963 « Radioactivation Analysis » by H. J. M. BOWEN and D. GIBBONS (Oxford University Press).
- 1964 *L'analyse par radioactivation et ses applications aux sciences biologiques.* 3^e Colloque International de Biologie de Saclay, septembre 1963.
- 1964 Radiochemical methods of analysis. *Proceedings of a Symposium*, Salzburg, 19-23 septembre 1964, 1 et 2.
- BROOKE, C. et E. PEETERS
1964 Spectrométrie et analyse par activation.
1. Principes et méthodes.
2. Applications à la détermination des impuretés de fluorines naturelles.
Revue M.B.L.E., 7 (3 et 4).
- SICHER, H.
1962 *Orban's oral histology and embryology.* Mosby, Saint-Louis.

Adresse des auteurs :

E. PEETERS,
51, avenue Legrand, Bruxelles 5.

J. CATOIRE,
181, avenue de la Couronne, Bruxelles 5.