

VINGT-QUATRIÈME LEÇON

QUELQUES RÉACTIONS DE L'URINE DIAZO-RÉACTION — BILE — ALBUMOSES

La diazo-réaction d'Ehrlich et ses résultats cliniques. L'aldéhyde-réaction. — Recherche de la bile dans l'urine par les procédés physiques et chimiques. Réactions de Pettenkofer et de Gmelin; emploi des matières colorantes. Réaction de Salkowski. Réaction de Hay. — Albumosuries. Réaction de Jacquemet. Réaction de Bence Jones, albumosurie myélopathique.

Parmi les réactions très nombreuses que fournit au clinicien l'examen de l'urine, l'une des plus curieuses est la diazo-réaction d'Ehrlich, qui consiste dans l'apparition d'une substance colorée, assez mal définie (1).

Elle nécessite l'emploi des deux solutions suivantes :

<i>Solution A.</i>	
	grammes.
Acide sulfanilique	5
Acide chlorhydrique	50
Eau distillée.	1 000
<i>Solution B.</i>	
	grammes.
Nitrite de soude.	0,50
Eau distillée.	100

Ces solutions doivent être fraîchement préparées.

Pour rechercher la réaction, on verse dans un tube à essai 10 cc. de la solution A et deux gouttes de la solution B; on agite et l'on ajoute ensuite 10 cc. de l'urine à examiner, puis quelques gouttes d'ammoniaque. Si la réaction est positive, une coloration rouge apparaît.

Voici ce qui se passe dans cette réaction. L'acide chlorhy-

(1) Voir M. LÖPER et R. OPPENHEIM. La diazo-réaction d'Ehrlich (*Gaz. des hôpitaux*, 23 mai 1901, p. 577).

drique de la première solution, au contact du nitrite de soude de la deuxième, met en liberté de l'acide nitreux qui transforme l'acide sulfanilique de la première en un corps appelé sulfodiazobenzol. Si l'urine renferme la substance inconnue qui donne lieu à la réaction d'Ehrlich, ce sulfodiazobenzol forme avec elle un chromogène, c'est-à-dire une substance incolore, susceptible d'engendrer une substance colorée. Cette transformation du chromogène en substance colorée a lieu sous l'action d'un alcali, l'ammoniaque.

La teinte de cette substance colorée est rouge, avec diverses nuances. A vrai dire, toutes les urines ainsi traitées donnent une couleur jaune topaze claire; mais ce qui caractérise la réaction d'Ehrlich, c'est le rouge avec ses divers degrés d'intensité décroissante : écarlate, cerise, vermillon (1).

Pour bien voir la réaction, on doit, en terminant, ajouter les quelques gouttes d'ammoniaque à la surface du liquide, sans agiter: la coloration se développe alors seulement à la partie supérieure de l'urine, sans diffuser dans toute la masse liquide, et de plus, la mousse blanche qui surnage prend une teinte rouge ou saumon, caractère fort important, car en cas de teinte douteuse, cette couleur de la mousse permet d'affirmer une réaction positive.

Lorsqu'on abandonne à lui-même le tube dans lequel on a fait la réaction, la coloration devient moins nette et s'efface. Il se forme un dépôt de couleur verte, qui est bien apparent au bout de 24 heures et auquel certains auteurs ont attribué, avec quelque exagération semble-t-il, une grande valeur, parce qu'il permettrait de conserver pendant un certain temps une preuve de la réaction. On s'accorde néanmoins à reconnaître que la réaction immédiate est toujours préférable.

Quelle est la nature exacte des phénomènes chimiques qui se passent dans la réaction d'Ehrlich? Quelle est la substance de l'urine qui forme le chromogène et quelle est celle qui résulte de la transformation de ce dernier corps en substance colorée?

(1) D'après la notation d'Ehrlich, ces trois degrés sont indiqués par les signes R³, R², R¹; quant à la coloration jaune, elle est désignée par R_μ.

Ni l'une ni l'autre de ces questions n'a pu être encore résolue catégoriquement et l'on n'est pas parvenu à définir chimiquement ni le corps dont la présence dans l'urine est nécessaire pour que la réaction ait lieu, ni le produit coloré de cette réaction.

On a reconnu que la substance pathologique de l'urine qui fournit le chromogène se fixe sur le charbon, comme le font en général les matières colorantes. Elle est de nature organique, car elle réduit le permanganate de potasse, qui empêche la réaction de se produire. Elle résiste à la chaleur à 120° C., comme l'ont vu MM. Lœper et Oppenheim. Un grand nombre d'auteurs pensent qu'il s'agit vraisemblablement d'un corps de la série aromatique, car on sait que les corps de cette série donnent en général des substances colorées en s'unissant aux substances diazoïques, comme le sulfodiazobenzol. D'autre part, on obtient une réaction qui rappelle celle d'Ehrlich, sans toutefois lui être identique, avec l'urine contenant du phénol, du thymol, du gâïacol, de la créosote, du naphthol, de l'antipyrine, de la phloridzine. Il importe même de savoir, pour éviter des erreurs, que ces médicaments peuvent donner lieu à des réactions trompeuses.

Quant au produit de la réaction, il est fixé par le charbon, comme son chromogène; il est légèrement soluble dans l'aniline.

Enfin, le précipité vert qui se dépose au fond du tube est, d'après Ehrlich, un sel résultant de l'union d'une base avec un acide coloré jaune rouge.

On ne sait si la substance particulière de l'urine qui fournit la réaction préexiste toute formée dans le sang en petite quantité; toujours est-il que MM. Lœper et Oppenheim n'ont pu la retrouver dans le sérum. On l'a cherchée aussi sans succès dans l'intestin, le foie, les foyers infectieux, et l'on ne connaît rien de certain sur son origine.

Étant donnée l'incertitude qui enveloppe la nature de la réaction d'Ehrlich, on conçoit qu'on ne puisse l'utiliser que d'une manière empirique, sans pouvoir en tirer d'indication sur la physiologie pathologique de la maladie. Mais l'observation

empirique des faits a déjà conduit à des résultats dont la clinique peut tirer parti.

Un premier point bien établi, c'est que la diazo-réaction n'existe guère que dans les maladies infectieuses fébriles. Cette règle comporte des exceptions pour les cachexies avancées, notamment celle du cancer.

Parmi les infections aiguës, un grand nombre comptent la réaction d'Ehrlich parmi leurs symptômes. Pour ce qui est des infections pulmonaires, sans parler de la tuberculose sur laquelle nous reviendrons dans un instant, la pneumonie peut s'accompagner de la diazo-réaction: la statistique de Georgiewsky (1) donne 39 cas positifs sur 221, et de ces 39 cas, 37 sont mortels, ce qui démontre suffisamment combien l'existence de la réaction est alors un signe fâcheux. Dans la broncho-pneumonie, elle est beaucoup plus rare. Dans les pleurésies, en dehors de celles qui sont dues à la tuberculose, la réaction fait défaut.

Fréquente dans les fièvres éruptives en général, elle apparaît surtout à la période de suppuration de la variole, d'après Sergent (2). Dans la scarlatine, elle est loin d'être rare, car Rivier (3) l'a notée 12 fois sur 29; elle fait, au contraire, défaut dans les exanthèmes scarlatiniformes, de sorte que sa présence permet, en cas de doute, d'éliminer le diagnostic d'exanthème médicamenteux ou sérothérapique. Sa fréquence est grande aussi dans la rougeole, et Hèze (4) l'a observée 70 fois sur 90 cas à la période éruptive. Au contraire, elle fait défaut dans la rubéole et la suette, ce qui peut être utilisé pour le diagnostic parfois délicat entre ces maladies et la rougeole.

Pour l'érysipèle il y a divergence entre les auteurs: Clemens l'a observée 5 fois sur 22 (5), Coste (6) dans les deux tiers des cas et surtout dans les formes sérieuses, MM. Widal et Bezan-

(1) GEORGIEWSKY. *Vratch*, 1883, n° 28 et *Deutsche med. Wochenschr.*, 1883, n° 45 et 48.

(2) SERGENT. *Bulletin médical*, fév. 1901.

(3) P. RIVIER. De la diazo-réaction d'Ehrlich (*Thèse de Paris*, 1898, n° 392).

(4) HÈZE. *Arch. provinc. de médecine*, 1900.

(5) CLEMENS. *Deutsches Arch. f. klin. Med.*, 1899.

(6) E. COSTE. De la diazo-réaction dans l'érysipèle (*Thèse de Paris*, 1899, n° 355).

çon (1) chez la plupart des malades. Dans l'impaludisme, elle est sans rapport avec la durée et l'intensité de la maladie. Elle n'a pas été rencontrée dans la fièvre récurrente (2).

Très rare dans la diphtérie, puisque M. Lobligois (3) ne l'a observée qu'une fois sur 80, — dans la grippe où MM. Lœper et Oppenheim l'ont notée 6 fois sur 53, — et dans le rhumatisme aigu où elle figure 2 fois sur 98 dans les statistiques additionnées de Rivier et de MM. Lœper et Oppenheim, elle est, par contre, presque constante dans les pyémies, l'infection puerpérale, le typhus exanthématique.

Mais c'est surtout dans la fièvre typhoïde et la tuberculose fébrile qu'elle offre un vif intérêt pour le clinicien.

Dans la *fièvre typhoïde*, sa présence est la règle, puisqu'elle existe, d'après Rivier, dans 97 p. 100 des cas (96 p. 100 dans la statistique personnelle de MM. Widal et Bezançon). Les exceptions paraissent concerner surtout les formes bénignes, car dans les cas de MM. Widal et Bezançon, sur 7 exceptions, il y avait 4 typhoïdettes. Ce qui la rend particulièrement précieuse, c'est qu'elle apparaît d'une façon précoce, à une époque où les symptômes cliniques sont encore douteux et où la séro-réaction fait souvent défaut. Elle atteint son maximum d'intensité à la période d'état; elle décroît graduellement pendant la période de défervescence, puis disparaît à la convalescence, et le plus souvent même un peu avant la chute définitive de la fièvre. En somme, elle suit assez exactement l'évolution même de l'infection; toutefois, dans les cas mortels, elle peut disparaître à l'approche de la mort. En cas de rechute elle reparait. MM. Launois et Lœper l'ont vue reparaitre aussi à l'occasion d'une orchite éberthienne, mais M. Widal ne l'a pas décelée dans des cas anciens d'ostéite typhoïdique.

En somme, dans la fièvre typhoïde, la diazo-réaction donne

(1) F. WIDAL et F. BEZANÇON. in *Traité de pathologie générale* de Bouchard, t. VI, p. 570.

(2) W. GIEDGOWD. *Kronika lekarska*, 13 nov. et 1^{er} déc. 1902.

(3) F. LOBLIGEOIS. Étude clinique et diagnostique des érythèmes scarlatiniformes et de la scarlatine vraie (*Thèse de Paris*, 1902, n° 149).

des indications utiles sur la marche de la maladie et peut aider à son diagnostic, car sa présence permet d'écarter sans grandes chances d'erreur les hypothèses d'embarras gastrique fébrile, de grippe, de méningite cérébro-spinale. Mais elle ne permet nullement de rejeter le diagnostic si délicat et important à élucider de la tuberculose aiguë.

Dans les manifestations aiguës de la *tuberculose*, en effet, la diazo-réaction est très commune. Dans la phtisie chronique elle est d'une grande fréquence à une période avancée, quoique, d'après Michaelis, elle puisse disparaître à la période agonique. Sa gravité n'est point mise en doute et même, d'après de nombreux auteurs, sa présence doit suffire à faire exclure, pour cause d'incurabilité, les tuberculeux du sanatorium (1).

Dans la phtisie aiguë on peut dire qu'elle est constante : elle existait dans les 73 cas de Clemens, les 6 de Lœper et Oppenheim; c'est également l'opinion de MM. Widal et Bezançon et c'est ce que j'ai personnellement observé.

Dans les épanchements des séreuses, pleurésies, ascites et méningites de nature tuberculeuse, la réaction d'Ehrlich est inconstante, mais elle possède, lorsqu'elle existe, une grande valeur pour le diagnostic de cette nature tuberculeuse.

En somme, la réaction d'Ehrlich fournit au clinicien des indications utiles pour le diagnostic et le pronostic. Elle peut servir à distinguer la fièvre typhoïde de la méningite cérébro-spinale, de la grippe, de l'embarras gastrique fébrile; elle aide à reconnaître la tuberculose aiguë, mais ne permet pas de la distinguer de la fièvre typhoïde. Elle aide aussi à établir la nature tuberculeuse des pleurésies, péritonites et méningites. Elle peut encore faciliter le diagnostic entre les fièvres éruptives et les éruptions pathogénétiques, entre la rougeole d'une part, la suette et la rubéole de l'autre.

Sous le rapport du pronostic, dans la tuberculose pulmonaire, elle indique l'incurabilité; dans les cas à grosses lésions, son absence indique que la fin n'est pas imminente, tandis que

(1) MICHAELIS. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1899, n° 10.

chez les malades peu avancés et apyrétiques, lorsqu'elle existe d'une façon intense et continue, elle annonce une forme grave et rapide. Dans la fièvre typhoïde, sa persistance à la fin de la période de déclin fait craindre une récurrence. Dans l'érysipèle, sa disparition sans amendement de l'état général est un indice de gravité.

Il y a là, vous le voyez, un ensemble de renseignements précieux pour la clinique et, comme la réaction d'Ehrlich est exempte de difficultés techniques, il importe que tout praticien s'exerce à sa recherche.

Je dois ajouter qu'Ehrlich a découvert plus récemment une autre réaction, très voisine de la précédente et encore plus facile à obtenir (1). Le réactif employé a la composition suivante :

Diméthylamidobenzaldéhyde (2). . .	20 grammes
Acide chlorhydrique pur.	500 —
Eau distillée.	500 —

On verse quelques gouttes de cette solution dans 4 ou 5 centimètres cubes d'urine et, si la réaction est positive, on obtient une coloration qui varie du jaune un peu rosé au rose clair et au rouge cerise.

Cette dernière teinte, qui caractérise surtout cette *diméthylamidobenzaldéhyde-réaction*, ou plus simplement *aldéhyde-réaction*, se rencontre dans la fièvre typhoïde, l'entérite tuberculeuse, la tuberculose pulmonaire, c'est-à-dire dans des affections où s'observe la diazo-réaction.

Ce qui fait l'intérêt de cette nouvelle réaction, ce n'est pas seulement qu'elle offre plus de facilité technique que la précédente, c'est aussi qu'elle est bien mieux caractérisée chimiquement.

En effet, la substance colorante se laisse facilement entraîner par le chloroforme auquel elle donne une teinte violette, analogue à celle que donne l'iode lorsqu'on pratique la recherche clas-

(1) P. EHRLICH. Ueber die Dimethylamidobenzaldehydreaction (*Die medicin. Woche*, 15 avril 1901).

(2) Ce corps est une substance cristallisée en paillettes jaunes, répondant à la formule $C^6H^4.CO.H.N(CH^3)^2$.

sique de l'iodure de potassium dans l'urine. Aussi Pröscher (1) a-t-il pu, en reprenant la matière colorante par le chloroforme ou l'épichlorhydrine, isoler le corps (chromogène) qui, par sa combinaison avec la diméthylamidobenzaldéhyde, donne naissance à la coloration. Ce corps, dont Pröscher a étudié les caractères chimiques et spectroscopiques, paraît être un dérivé acétylé des glycosamines (2).

Les travaux entrepris sur cette nouvelle réaction ne sont pas encore assez nombreux pour qu'on puisse affirmer d'ores et déjà qu'elle doive supplanter complètement la diazo-réaction, ni qu'elle donne des résultats cliniques d'une identité parfaite avec cette dernière. Mais il y a lieu d'en poursuivre l'étude et c'est pourquoi je ne pouvais manquer de vous la signaler.

La présence de la bile dans les urines se reconnaît souvent d'un simple coup d'œil aux colorations spéciales qu'elle leur communique. Aux plus faibles degrés, l'urine ictérique offre seulement une apparence dichroïque avec des reflets verdâtres et une teinte jaune clair de la mousse. Un peu plus chargée de pigment biliaire, elle est de couleur acajou. Enfin, au degré le plus élevé, elle peut être noir foncé comme du café. On obtient des résultats beaucoup plus précis par l'examen optique avec le *spectroscope* : les pigments biliaires éteignent la partie bleue du spectre.

Enfin les réactions chimiques, non seulement mettent en évidence la présence de pigments biliaires, mais encore permettent de faire, entre les éléments de la bile, quelques distinctions.

La *réaction de Pettenkofer* caractérise les acides biliaires. Elle est due à l'action du furfurole sur l'acide cholalique. Elle se fait en plaçant dans un verre à pied l'urine additionnée de quelques gouttes d'une solution de sucre de canne (saccharose) à un cin-

(1) PRÖSCHER. *Zeitschr. f. physiolog. Chemie*, 1901, Bd. XXXI.

(2) Il est soluble dans l'alcool, peu soluble dans l'eau, insoluble dans la benzine, l'éther. Il se dissout dans la lessive de potasse et l'ammoniaque en leur donnant une couleur jaune.

Voir aussi F. MÜLLER. *Zeitschr. f. Biologie*, Bd. XLII, p. 561; NOZICKAWSKY. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1902, n° 44.

quième, et en y versant un filet d'acide sulfurique concentré. Après agitation avec une baguette de verre, l'urine devient violette, puis pourpre. Mais l'albumine gêne la réaction et, quand l'urine en renferme, il faut d'abord l'en débarrasser.

On rend la réaction plus sensible en y apportant la modification proposée par M. Meillère (1) : elle consiste à extraire de l'urine, additionnée de 1 p. 100 d'acide sulfurique, les acides biliaires au moyen d'éther, et à pratiquer ensuite la réaction sur le résidu de l'évaporation de cet extrait éthéré. Mais c'est là un procédé de laboratoire.

La réaction de Gmelin, beaucoup plus usitée que la précédente et couramment employée en clinique, caractérise le pigment biliaire vrai, non modifié, c'est-à-dire le bilirubine. Elle consiste à transformer, par l'acide nitrique légèrement nitreux, le bilirubine, peu apparente dans l'urine, en biliverdine, dont la couleur est beaucoup plus visible. Il convient que l'acide nitrique ne soit pas trop chargé de vapeurs nitreuses, car il se formerait, par décomposition de l'urée, des bulles abondantes qui gêneraient pour apprécier la réaction.

On opère en versant d'abord, dans un verre conique ou un tube à essai, l'acide nitrique, puis l'urine, qui surnage. La zone de contact des deux liquides offre alors, s'il y a de la bile, une série d'anneaux diversement colorés. De haut en bas, on voit la bilirubine avec une teinte rouge, la biliverdine avec une teinte verte, puis la bilicyanine avec une teinte bleue, la bilipurpurine avec une teinte rose et la cholétéline dont la teinte jaunâtre se confond avec celle de l'urine.

Si l'urine renferme, au lieu de bilirubine, du pigment modifié ou pigment rouge brun, ou bilirubidine, l'acide nitrique n'y fait point apparaître la superposition caractéristique des disques vert et rose, mais seulement une teinte acajou.

La réaction de Gmelin, très pratique, n'est pas très sensible. Elle reste négative lorsqu'il y a très peu de pigment dans l'urine ;

(1) G. MEILLÈRE. Recherche des acides biliaires dans les liquides organiques et en particulier dans l'urine (*Soc. de biologie*, 26 août 1901).

dans le sérum elle est d'une exécution difficile à cause de la coagulation des albumines par l'acide nitrique (1).

La réaction de Salkowski a pour objet de lui donner une sensibilité beaucoup plus grande. Voici comment elle se pratique :

L'urine préalablement filtrée est alcalinisée au moyen d'une solution de carbonate de soude cristallisé à 25 p. 100, versée goutte à goutte, jusqu'à l'apparition d'un léger louche (il faut éviter d'aller jusqu'à l'alcalinisation franche qui produirait un précipité floconneux). On ajoute alors un excès de chlorure de calcium, soit 10 cc. d'une solution du sel anhydre à 1 p. 10, et il se forme un abondant précipité de phosphates, de carbonates et d'urates. On filtre, et l'on vérifie que le filtrat ne précipite plus par le chlorure de calcium. Puis on lave le précipité pâteux avec un volume d'eau égal à celui de l'urine employée, on recueille cette pâte, on la place au fond d'un verre et l'on verse sur elle avec un compte-gouttes de l'acide chlorhydrique du commerce : il se produit une effervescence, par décomposition du carbonate de chaux, et la liqueur devient transparente. C'est sur cette petite quantité de liquide que l'on cherche alors la réaction de Gmelin, en versant au fond du verre de l'acide nitrique avec une pipette.

Lorsqu'on opère sur le sérum ou sur une sérosité et qu'on ne dispose que d'une petite quantité de cette humeur, au lieu de jeter le précipité sur un filtre, on peut se borner à le recueillir par centrifugation et le laver en l'agitant avec de l'eau et en centrifugeant de nouveau. Puis on le traite comme précédemment, dans le tube même du centrifugeur. Toutefois cette manière de faire est moins sensible.

Malgré ses avantages, la réaction de Salkowski exige certaines manipulations qui la font réserver à un nombre de cas limité, et c'est incontestablement la réaction de Gmelin qui, par sa simplicité, reste le plus communément employée dans la clinique courante.

(1) La présence d'un anneau bleu, formé dans le sérum au contact de l'acide nitrique suffit à caractériser la bilirubine. A. GILBERT, M. HERSCHER et S. POSTERNAK, Sur la signification de l'anneau bleu produit par le réactif de Gmelin dans certains sérums (réaction de Hayem) (*Soc. de biologie*, 9 mai 1903, p. 384).