

CHAPITRE II

MATIÈRES SUCRÉES

L'urine renferme, dans certains cas pathologiques, des matières sucrées qui sont la glucose, la lactose, la lévulose, la maltose, l'inosite et des pentoses.

Depuis les merveilleux travaux de Fischer et de ses élèves sur les sucres, on peut classer les différentes substances sucrées urinaires de la façon suivante :

1° Corps renfermant une fonction aldéhyde et quatre fonctions alcool : *pentoses* ;

2° Corps renfermant une fonction aldéhyde ou acétone et cinq fonctions alcools : *hexoses* (comprenant la *glucose* et la *dextrose*, et la *lévulose* ou *fructose*) ;

3° Corps renfermant 2 molécules d'hexoses (disaccharide : la *lactose*) ;

4° Un sucre de la série cyclique : l'*inosite*.

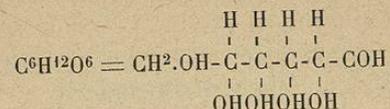
Sans s'astreindre à cette classification, basée sur la constitution chimique de ces différents sucres, nous étudierons successivement, au point de vue urologique, la glucose, la lactose, la lévulose, les pentoses et l'inosite.

Tout d'abord, on ne doit pas perdre de vue que l'urine physiologique, c'est-à-dire l'urine normale, renferme des traces de glucose que Abelès et Pavy estiment de 0^{gr},01 à 0^{gr},05 par litre, et qu'elle réduit très faiblement la liqueur de Fehling. Cette réduction est due en partie à cette petite quantité de sucre, et aussi à d'autres substances réductrices normalement contenues dans l'urine.

Pratiquement cette réduction, qui équivaut à 0^{gr},40 de sucre réducteur par litre (A. Gautier), peut être négligée dans l'examen des urines sucrées pathologiques.

D'après Willcox, il existe, en outre, dans l'urine normale, un composé, polysaccharide, glucoprotéide ou autre, qui, après ébullition en présence d'acide chlorhydrique étendu, donne une matière sucrée qui se combine avec la phénylhydrazine pour former une osazone.

1. — d-GLUCOSE OU DEXTROSE



Propriétés. — La glucose, cristallisée dans l'eau, renferme une molécule d'eau de cristallisation ($\text{C}^6\text{H}^{12}\text{O}^6, \text{H}^2\text{O}$). Elle se présente, lorsqu'elle est pure, en petits cristaux aiguillés et feutrés. Cristallisée dans l'alcool, elle est anhydre, et son point de fusion est alors de 146° .

Elle est très soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool absolu, un peu plus dans l'alcool à 85° .

La glucose anhydre, dissoute dans l'eau, et examinée immédiatement après sa dissolution au polarimètre, donne une déviation vers la droite de $\alpha_D = +104^\circ$.

Au bout de quelque temps, et rapidement si on chauffe, le pouvoir rotatoire diminue et n'est plus que de $+52^\circ,6$ à 53° .

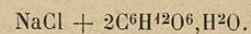
Il résulte des observations de Béchamp, confirmées par celles de B. Tollens, que cette birotation est due à un hydrate, qui se dissocierait peu à peu en fournissant l'anhydride du glucose auquel appartient la rotation simple.

D'après Tanret, la glucose aurait même une trirotation répondant à trois modifications isomériques du glucose, et cet auteur a pu isoler, à l'état cristallisé, la modification à pouvoir rotatoire constant, qu'il désigne sous le nom de modification β .

La glucose s'oxyde facilement et réduit la solution de sels des métaux nobles. Elle donne du bismuth métallique avec le sous-nitrate de bismuth en présence des alcalis;

elle décompose dans les mêmes conditions les sels d'or et d'argent. La dextrose réduit, en présence des alcalis, les solutions cuivriques surtout à l'ébullition avec formation d'oxydure cuivreux; elle transforme les sels ferriques en sels ferreux; elle réduit le ferricyanure de potassium en ferrocyanure.

Elle s'unit facilement au chlorure de sodium pour donner une combinaison cristalline de formule :



La glucose se combine à chaud, en présence de l'acide acétique, avec la phénylhydrazine pour donner une hydrazone; puis, sous l'action continue de la chaleur, il se forme de la phénylglucosazone, qui cristallise facilement en belles aiguilles jaunes presque insolubles dans l'eau.

Le point de fusion instantané de cette osazone, pris au bloc de Maquenne, est de 230° à 232° (G. Bertrand).

La glucose fermente facilement au contact de la levure de bière en donnant principalement de l'alcool et de l'acide carbonique.

Réactions. — La glucose peut être caractérisée par ses propriétés réductrices vis-à-vis des sels de bismuth et de cuivre, ou encore par la formation de cristaux de phénylglucosazone, lorsqu'on la chauffe en solution aqueuse avec de l'acétate de soude et du chlorhydrate de phénylhydrazine. On met aussi à profit la propriété que possède la glucose, en solution alcaline, de transformer par réduction l'acide orthonitrophénylpropionique en indigo bleu.

Extraction du glucose dans les urines. — MÉTHODE DE LE GOFF. — On évapore de 2 à 4 litres d'urine au bain-marie, et mieux dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. Le sirop est abandonné dans un lieu frais, et au bout de quinze jours, il est transformé en une masse cristalline que l'on

broie et que l'on lave avec de l'alcool à 90° froid qui enlève l'urée, les principes colorants et extractifs, et la plus grande partie des chlorures.

Les cristaux lavés sont ensuite dissous dans de l'alcool à 95° bouillant; la solution est filtrée sur du noir animal exempt de chlorures et de phosphates; on la soumet à la cristallisation dans le vide.

La glucose se dépose la première, lentement, en cristaux fins et brillants; on enlève les eaux-mères, et l'on redissout dans l'alcool à 95° les cristaux formés.

En répétant plusieurs fois cette opération, on obtient de la glucose chimiquement pure.

Si, au lieu d'enlever le liquide qui baigne les cristaux ci-dessus, on laisse évaporer à sec, on obtient en même temps des cristaux de *glucose* + *chlorure de sodium*; ceux-ci sont trapus, volumineux, et se distinguent nettement des cristaux de glucose, dont on les sépare en les enlevant au moyen d'une pince.

Recherche de la glucose dans l'urine. — C'est en se servant de son procédé d'extraction de la glucose des urines, précédemment indiqué, que Le Goff a pu caractériser le sucre de l'urine des diabétiques, et savoir auquel des seize isomères du glucose il correspondait.

Cet auteur a montré, d'une façon indubitable, que le sucre de l'urine est bien la glucose *d*, ou dextrose de E. Fischer. Quelques-uns ont pensé que la nature du sucre des urines des diabétiques était différente de la glucose en raison de ce fait que les dosages donnaient des chiffres différents suivant qu'ils étaient effectués au polarimètre ou à la liqueur de Fehling.

G. Patein et E. Dufau ont bien démontré que cette différence entre les chiffres des deux méthodes est due à la présence dans l'urine de substances lévogyres, que le sous-acétate de plomb ne précipite pas complètement. Il nous sera donné de voir, à propos du dosage du sucre, qu'il faut

remplacer, suivant ces deux auteurs, le sous-acétate de plomb par le nitrate acide de mercure, qui donne un liquide incolore et limpide dont la détermination de la matière sucrée, effectuée comparativement par la méthode optique et par la méthode volumétrique, donne sensiblement les mêmes chiffres: cette concordance confirme une fois de plus que l'urine des diabétiques contient bien la glucose *d*.

Avant de rechercher la présence de la glucose dans l'urine, il faut tout d'abord s'assurer qu'elle ne renferme pas d'albumine. Si elle en contient, on la fait bouillir et on l'additionne de quelques gouttes d'acide acétique au 1/10°. C'est donc toujours sur l'urine filtrée, exempte d'albumine, qu'il faut opérer pour la recherche de la glucose.

a) RECHERCHE PAR LA POTASSE OU LA SOUDE CAUSTIQUE. — On met de l'urine dans un tube à essai, on y ajoute 2 grammes environ de potasse ou de soude caustique pour 40 à 45 centimètres cubes d'urine, et on chauffe. L'urine se colore en rouge, en brun rouge ou en noir, suivant la quantité de sucre qu'elle contient.

Ce procédé de recherche n'est pas absolument caractéristique du glucose, et le résultat obtenu a besoin d'être contrôlé par l'une des méthodes qui suivent.

b) RECHERCHE PAR LE RÉACTIF DE BÖTTGER ET NYLANDER. — On prépare ce réactif en dissolvant 2 grammes de sous-nitrate de bismuth et 4 grammes de sel de Seignette dans 100 centimètres cubes d'eau, on y ajoute 10 grammes de soude caustique.

On prend 10 centimètres cubes d'urine que l'on additionne de 1 centimètre cube du réactif bismuthique, et on porte à l'ébullition. Si l'urine renferme du sucre, il se forme d'abord un précipité gris, puis noir, constitué par du bismuth réduit.

c) RECHERCHE PAR LA LIQUEUR DE FEHLING. — Nous avons vu que la glucose jouit de propriétés réductrices, et qu'elle réduit, en particulier, les solutions alcalines d'oxyde

de cuivre ; on utilise cette réaction pour déceler les matières sucrées dans les urines.

Parmi les nombreuses formules de liqueurs cuivriques, le choix doit se porter sur la liqueur de Fehling (formule de Pasteur), qui a l'avantage d'être peu altérable à la lumière et de ne pas laisser déposer, au bout d'un certain temps, d'oxydure cuivreux. Elle se prépare en dissolvant séparément, dans de l'eau distillée, 130 grammes de soude caustique, 105 grammes d'acide tartrique, 80 grammes de potasse caustique et 40 grammes de sulfate de cuivre pur. On mélange les diverses solutions et on complète au volume de 1 litre.

Pour procéder à l'essai de l'urine, on prend 5 à 6 centimètres cubes de liqueur de Fehling, que l'on porte à l'ébullition dans un tube à essai, on y ajoute un volume à peu près égal d'urine et on continue à faire bouillir pendant un moment. Si l'urine renferme du sucre, le mélange se trouble et laisse déposer l'oxydure de cuivre dont la couleur peut varier du jaune brun au rouge brun.

L'ébullition préalable de la liqueur de Fehling a pour but de s'assurer que le réactif seul ne donne pas, sous l'influence de la chaleur, d'oxydure cuivreux.

L. Hugouenq recommande une pratique un peu différente, qui permet à la réaction de Fehling d'atteindre son maximum de sensibilité : il ajoute, avec une pipette, à la liqueur cuivrique, déjà chaude, un échantillon d'urine filtrée et chauffée au préalable. Cet auteur recommande d'opérer avec précaution pour éviter le mélange des deux liquides et on maintient le tube une ou deux minutes au bain-marie bouillant. Lorsque l'urine contient du sucre, on voit se former à la surface de séparation des deux couches une zone jaune rouge. Il ne faut pas prolonger trop longtemps l'action de la chaleur, car, à la longue, la réaction aurait lieu même en l'absence du sucre.

Il arrive très souvent que, dans la recherche de la glucose par le réactif cupro-potassique, on obtient un trouble de la

liqueur avec coloration jaune-verdâtre, ce qui rend perplexé l'analyste, qui ne peut affirmer l'existence du sucre, surtout quand celui-ci est en petite quantité. Comme, d'une part, l'acide urique en excès, les matières colorantes, la créatinine jouissent d'un certain pouvoir réducteur, l'indication fournie par le réactif de Fehling peut être sujette à caution. Il faut alors traiter l'urine par le dixième de son volume de sous-acétate de plomb liquide, on agite et on filtre.

Le précipité plombique retient l'acide urique et les matières colorantes : le liquide filtré est additionné, goutte à goutte, d'acide sulfurique au tiers jusqu'à réaction légèrement acide, pour enlever l'excès de plomb ; on neutralise par quelques gouttes de lessive de soude et on filtre ; le filtrat est alors essayé par le réactif cupro-potassique. Généralement avec les urines, même peu riches en sucre, on observe, en suivant cette technique, une réduction très nette de la liqueur de Fehling.

D'après J. Eury, il arrive quelquefois de rencontrer des urines qui ne donnent pas de précipité rouge à l'ébullition et qui, néanmoins, contiennent du sucre en proportion assez considérable : la liqueur de Fehling se décolore et reste limpide. Puis, si on abandonne le tube à lui-même, la partie supérieure du liquide se colore rapidement en rouge-brun ; un précipité brun se forme qui ne tarde pas à envahir la masse du liquide et tombe au fond du tube. Ce phénomène se produit avec des urines très riches en créatinine, laquelle se combine à l'oxyde cuivreux, produit par l'action du glucose sur la liqueur de Fehling, en donnant une combinaison soluble ; celle-ci s'oxyde à chaud au contact de l'air pour donner un précipité formé d'oxyde cuivrique et de créatinine. Comme conséquence, J. Eury conseille, lorsqu'on se trouve en présence d'une réaction douteuse à la liqueur de Fehling, de déféquer l'urine avec les sels de mercure (acétate, azotate ou bichlorure de mercure) en présence de carbonate de soude ; la créatinine est alors préci-

pitée, ce que l'on n'obtient pas lorsqu'on emploie le sous-acétate de plomb. La liqueur filtrée est alors essayée par la liqueur de Fehling.

d) RECHERCHE PAR LE CHLORHYDRATE DE PHÉNYLHYDRAZINE.

— On dissout, dans 20 centimètres cubes d'urine filtrée, 1 gramme de chlorhydrate de phénylhydrazine et 15^{gr},0 d'acétate de soude cristallisé, et on chauffe au bain-marie pendant une heure en ayant soin de ne pas dépasser, autant que

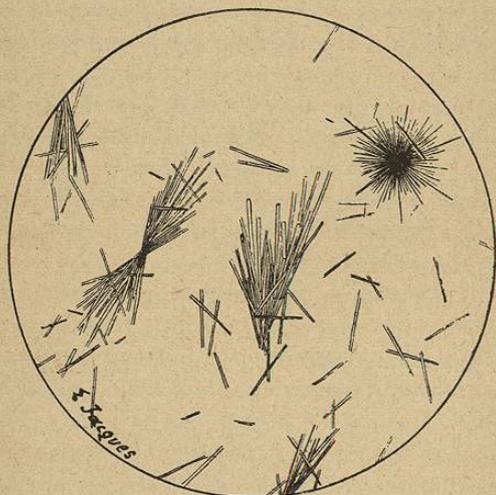


FIG. 13. — Cristaux de phénylglucosazone.

possible, la température de 80°. Si l'urine renferme du glucose, il se dépose des cristaux de phénylglucosazone qui, examinés au microscope, se présentent sous l'aspect de fines aiguilles (*fig. 13*) disposées en aigrettes, ou en épis et colorés en jaune.

Pour rechercher de minimes quantités de sucre dans les urines, A. Neumann conseille la technique suivante :

On emploie un tube à essai portant des points de repaire au 3^e, au 5^e et au 7^e centimètre cube; on y introduit

5 centimètres cubes d'urine et 2 centimètres cubes d'une solution d'acide acétique à 50/0 saturée d'acétate de soude, puis 2 gouttes de phénylhydrazine pure. On évapore, en chauffant, jusqu'à ramener le liquide à 3 centimètres cubes, et on laisse refroidir lentement. En opérant ainsi, on obtient une abondante cristallisation pour les urines contenant 0^{gr},50 de sucre par litre; avec une urine en renfermant 0^{gr},20 0/00, il se forme encore quelques rares cristaux, visibles au microscope.

Dans ce dernier cas, il suffit de diminuer l'acidité du milieu (sans, toutefois, la supprimer complètement) par addition de soude, et d'évaporer à nouveau jusqu'à 3 centimètres cubes; il se produit alors des cristaux visibles à l'œil nu, même avec des urines ne contenant que 0^{gr},10 0/00 de sucre.

D'après A. Cipollina, la réaction de la phénylhydrazine se produit mal dans les urines sucrées à densité élevée, riches en phosphates et en urates, et il recommande, comme le fait Neumann, d'ajouter à l'urine de l'acide acétique à 50 0/0; la formation de cristaux de phénylglucosazone se fait plus rapidement, et si, au bout d'une heure, on n'aperçoit pas de cristaux, on peut affirmer que l'urine ne renferme pas de glucose.

e) RECHERCHE PAR L'ACIDE ORTHOPHÉNYLPROPIOLIQUE. —

G. Ruini recherche la glucose dans l'urine avec une solution de 0^{gr},30 d'acide orthonitrophénylpropiolique dans 100 grammes d'eau, contenant 6 grammes de soude pure.

On fait bouillir l'urine pendant un instant avec le réactif, on laisse refroidir, et on agite avec du chloroforme; celui-ci se sépare, après repos, avec une coloration violacée plus ou moins intense due à l'indigotine formée. Cette recherche n'est pas entravée par la présence de l'albumine, des albumoses ou des peptones, ni par l'acide urique, l'acide hippurique, les divers pigments. Toutefois certaines substances, qui ne sont pas nettement déterminées, mais parmi lesquelles il faut comprendre très probablement la créa-

tinine et l'acide glycuronique, peuvent donner la réaction de l'indigo.

Cette particularité n'est pas un obstacle à la méthode; il suffit de déféquer l'urine par un sel de mercure (acétate, bichlorure ou azotate) en présence de carbonate de soude, pour écarter l'erreur pouvant provenir de ces substances, complètement précipitables par les sels mercuriques.

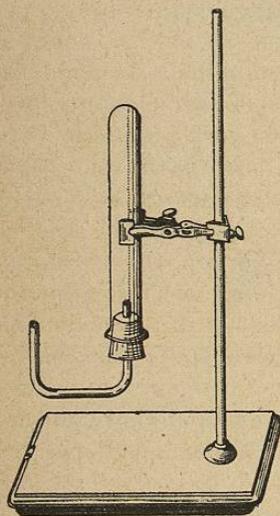


FIG. 14.

On opère dans un gros tube à essai fermé par un bouchon percé d'une seule ouverture donnant passage à un tube de verre courbé en U, à angle droit (fig. 14). On prend de la levure de bière pure, exempte de sucre, et L. Hugouenq recommande de purifier tout simplement la levure du commerce par des lavages répétés à l'eau, puis on l'essore entre des doubles de papier à filtrer. On introduit alors, dans le tube à réaction, de l'urine filtrée, mélangée de levure, et on ferme le tube avec le bouchon armé de son tube en U; il faut avoir soin que l'appareil soit entièrement rempli et ne contienne plus d'air. On renverse l'appareil, de telle façon que les deux branches du tube en U soient dirigées vers le haut, on le maintient en équilibre, soit à l'aide d'un support à pince, ou en le plaçant dans un vase, et on le met dans une étuve chauffée entre 30 et 32°.

Si l'urine renferme de la glucose, il se forme de l'acide

carbonique formé par suite de la fermentation alcoolique de la matière sucrée; celui-ci vient se réunir dans la partie supérieure du tube à essai, et le liquide s'échappe par le petit tube en U. L'urine normale, traitée dans les mêmes conditions, ne donne que quelques fines bulles d'acide carbonique, tandis qu'avec une urine sucrée on obtient facilement, au bout de quelques heures, plusieurs centimètres cubes de gaz.

Tous les procédés de recherche de la glucose que l'on vient d'indiquer n'ont point la même valeur au point de vue analytique, celui qui reste toujours le plus employé par suite de sa technique facile, et aussi parce qu'il est le plus rapide, c'est l'essai à la liqueur de Fehling, qui donne toujours des résultats définitifs, surtout si on a pris le soin de déféquer au préalable l'urine par les sels de mercure.

L'emploi de la fermentation et l'essai de formation de phénylglucosazone au moyen de la phénylhydrazine ont une valeur indiscutable, surtout lorsqu'il s'agit de déceler de minimes quantités de sucre.

Certains médicaments se transforment, dans l'organisme, en corps à fonctions réductrices qui s'éliminent par les urines, et celles-ci offrent alors tous les caractères des urines sucrées. D'après W. Haussmann, le choral, le chloroforme, l'essence de térébenthine, le copahu et ses composés, l'acétanilide donnent des composés réduisant la liqueur de Fehling. Il en est de même des urines contenant de l'acide chrysophanique, provenant de l'ingestion de rubarbe ou de séné.

Dans certaines circonstances non encore bien déterminées, les urines contiennent quelquefois des dérivés conjugués de l'acide glycuronique, produit intermédiaire de désassimilation de glucose. Or ces dérivés brunissent par la potasse, réduisent la liqueur de Fehling, mais ne décomposent pas les sels de bismuth.

La présence de semblables composés peut donc induire

l'analyste en erreur. On peut remédier à cet inconvénient en traitant l'urine à examiner par un léger excès de sous-acétate de plomb qui précipite ces divers composés à fonctions réductrices. L'excès de plomb est séparé par l'acide sulfurique, on filtre et, sur le filtrat, on procède à la recherche de la glucose.

Dosage de la glucose dans l'urine. — On peut doser le sucre dans l'urine par la liqueur de Fehling, par le polarimètre ou par la fermentation.

1° a) DOSAGE PAR LA LIQUEUR DE FEHLING ORDINAIRE. — Au préalable, on fixe le titre de la liqueur de Fehling (formule de Pasteur), c'est-à-dire que l'on détermine qu'elle est la quantité de glucose pure nécessaire pour décolorer un volume donné de réactif cupro-potassique.

Pour cela, on pèse 1 gramme de glucose *anhydre* et *pure* que l'on dissout dans 40 à 50 centimètres cubes d'eau, et on complète exactement le volume de 100 centimètres cubes : chaque centimètre cube de cette solution contient 0^{gr},01 de glucose.

On prend, avec une pipette exactement jaugée, 20 centimètres cubes de la liqueur de Fehling à titrer, on l'additionne de 50 centimètres cubes d'eau et on porte à l'ébullition le mélange placé dans un vase d'Erlenmeyer et, à l'aide d'une burette graduée, on verse goutte à goutte la liqueur sucrée dans le réactif bouillant. On arrête de temps en temps les affusions de solution de glucose en continuant l'ébullition pour faciliter le dépôt de l'oxydure cuivreux, provenant de la réduction de la liqueur de Fehling. Puis on continue à ajouter la solution sucrée, jusqu'à décoloration complète du liquide surnageant le précipité cuivreux. Lorsque le mélange examiné devant une feuille de papier blanc n'est plus coloré en bleu ou en vert, on note le nombre de centimètres cubes de solution sucrée employés. Si on a versé un excès de cette dernière, on en est averti par la coloration jaunâtre du

liquide surnageant, et si, au contraire, tout le cuivre n'est pas précipité, on obtient une coloration rouge brunâtre, lorsqu'une goutte du liquide est traitée par le ferrocyanure de potassium et l'acide acétique.

Le nombre de centimètres cubes de solution de glucose nécessaire pour décolorer 20 centimètres cubes de liqueur de Fehling, multiplié par 0^{gr},01, donnera la quantité de glucose réduisant ces 20 centimètres cubes de réactif.

Généralement, lorsqu'on prépare la solution cupropotassique suivant la formule de Pasteur (Voir p. 230), 1 centimètre cube de liqueur est décoloré par 0^{gr},005 de glucose, le chiffre trouvé dans le titrage se rapproche sensiblement de cette quantité.

Pour faire le dosage du glucose dans l'urine, il convient d'opérer sur une urine ne contenant pas plus de 4 à 5 0/0 de glucose et sur le réactif dilué dans les mêmes conditions que pour l'opération de son titrage. Dès lors, on mesure exactement, avec une pipette graduée, 10 centimètres cubes de liqueur de Fehling, que l'on met dans un vase d'Erlenmeyer, et on y ajoute 25 centimètres cubes d'eau. L'urine est diluée à 5, 10, ou 20 volumes d'eau, de telle façon que le mélange dilué ne contienne pas plus de 5 0/0 de glucose, ce dont on s'assure, au préalable, par un dosage approximatif, et on la met dans une burette graduée. Le réactif dilué est porté à l'ébullition, on y verse goutte à goutte l'urine, étendue d'eau, jusqu'à décoloration complète du réactif. On s'assure, comme pour le titrage, en employant le ferro-cyanure de potassium et l'acide acétique que la réduction du réactif cuivrique est totale.

Le volume de l'urine *diluée* employé contient $10 \times 0,005$ de glucose ; il est alors facile de déterminer la quantité, par litre d'urine, en tenant compte de la dilution préalable du liquide.

Généralement les urines des diabétiques sont peu colorées, leur volume est souvent considérable (polyurie), et, par suite, la proportion des éléments dissous se trouvant