

5° Le ferrocyanure acétique (Hofmeister) est plus sensible encore, soit au	1/50 000
4° Les acides trichloracétique, sulfosacétique permettraient, comme le ferrocyanure, de déceler jusqu'à 2 centigrammes par litre, soit au	1/50 000
5° Les réactifs de Tanret, de Spiegler, et en général les réactifs des alcaloïdes (tannin, acide picrique, phosphotungstique, etc.), seraient sensibles au	1/100 000
au moins.	
Parmi les réactions colorées, celle du biuret ne serait sensible qu'au 1/10 000, celle de Millon, au	1/20 000

Dosage de l'albumine

Le procédé le plus exact et aussi le plus simple pour doser l'albumine dans l'urine consiste à *coaguler cette substance par la chaleur*, à séparer et à peser le coagulum après l'avoir convenablement lavé. C'est ce procédé que nous décrivons tout d'abord.

Nous avons vu précédemment que la précipitation de l'albumine par la chaleur était incomplète : lorsque l'urine était pauvre en sels minéraux, notamment en chlorures; lorsque sa réaction était alcaline. Nous savons, de plus, que les phosphates peuvent être précipités en même temps que l'albumine dans les urines alcalines ou dans celles dont l'acidité est trop faible. Enfin, nous avons insisté sur ce fait, à savoir que, très souvent, l'acide acétique entrave la précipitation de l'albumine (acéto-solubilité), à moins toutefois que l'on n'ait pris la précaution d'ajouter à l'urine soit du chlorure de sodium, soit du sulfate de soude ou de magnésie.

Toutes ces considérations nous expliquent pourquoi le dosage de l'albumine ne peut être pratiqué par simple coagulation en présence de l'acide acétique, pourquoi il est nécessaire, dans la plupart des cas, de modifier la réaction de l'urine et sa teneur en sels avant de la porter à l'ébullition.

I. — DOSAGE DE L'ALBUMINE PAR COCTION

A 50 centimètres cubes d'urine filtrée on ajoute quelques gouttes d'acide acétique dilué et 2 grammes de chlorure de sodium purifié. On chauffe dans une capsule de porcelaine ou un bécherglas sur un feu doux jusqu'à ébullition légère; celle-ci est maintenue pendant quelques secondes; on remue à l'aide d'un agitateur afin d'empêcher les flocons d'albumine de s'attacher au fond de la capsule. Lorsque l'albumine est ainsi coagulée, on verse l'urine sur un filtre sans plis et taré à 100° (papier Berzélius); on rassemble avec de l'eau chaude les derniers flocons restés dans la capsule, on les jette sur le filtre, ou l'on continue les lavages à l'eau bouillante jusqu'à ce que le filtratum ne contienne plus de chlorure de sodium. Ceci fait, on lave à l'alcool puis à l'éther. Le filtre est enfin desséché à 100°, puis pesé. Son augmentation de poids représente la quantité d'albumine contenue dans 50 centimètres cubes d'urine.

REMARQUES. — *Quantité d'urine employée pour le dosage.* — La simple recherche qualitative doit déjà fournir des indications quant à la richesse relative de l'urine en albumine, et c'est d'après cette première constatation que l'on jugera s'il convient d'opérer le dosage sur une quantité supérieure ou inférieure à 50 centimètres cubes. Cette dernière quantité est convenable pour les cas où l'urine contient de 0 gr. 60 à 2 grammes d'albumine par litre environ.

Choix des sels qu'il convient d'ajouter à l'urine. — Au lieu de chlorure de sodium, on peut ajouter d'autres sels à l'urine : du sulfate de soude ou du sulfate de magnésie par exemple. L'addition de sulfate d'ammoniaque conseillée par quelques auteurs n'est pas très recommandable, car elle peut donner lieu à la formation d'urate d'ammoniaque ou de précipités contenant des pigments urinaires. Mais, comme la précipitation et les lavages se font à chaud, la formation d'un coagulum albumineux souillé d'urate d'ammoniaque est improbable.

Dans les cas où on emploie les sulfates de soude ou de magnésie, la dose de 4 pour 100 n'est pas toujours suffisante; il est mieux alors d'ajouter à l'urine un volume égal d'une solution saturée de sulfate de soude ou de magnésie (Panum).

La précipitation de l'albumine est-elle complète? — Dans tous les cas, il est bon de s'assurer que l'albumine est *totalelement précipitée* en ajoutant au filtratum, soit du ferrocyanure de potassium acétique, soit de l'acide trichloracétique.

Si les urines ne contiennent que de l'albumine ordinaire (sérine et globuline) on constate que les réactifs sensibles ajoutés soit au filtratum, soit à l'eau de lavage ne donnent ni précipité ni trouble. Mais si, outre la sérine et la globuline, l'urine contient des albumoses plus ou moins éloignées des termes albumine et peptone vraie, on observe ordinairement que le filtratum chargé de chlorures, de même que les eaux de lavage, donnent, à froid, des précipités avec le ferrocyanure de potassium acétique, l'acide trichloracétique, le réactif de Tanret, etc..., précipités qui sont solubles à chaud.

On a objecté que les albumoses ainsi décelées pouvaient prendre naissance aux dépens de la sérine et de la globuline, sous l'influence de la chaleur, de l'acide acétique, des lavages prolongés, etc... Comment expliquer alors que ces mêmes opérations appliquées à nombre d'urines manifestement albumineuses ne déterminent pas chez elles la formation de semblables albumoses?

Il n'en est pas moins vrai que beaucoup d'urines ne contenant que de la sérine et de la globuline au moment de l'émission peuvent renfermer des albumoses produites sous l'influence de fermentations bactériennes lorsqu'elles séjournent trop longtemps à une température élevée dans les chambres de malades.

Correction nécessitée par la présence des sels. — Les sels de l'urine et ceux que l'on y a ajoutés dans le but de favoriser la précipitation peuvent être englobés dans le coagulum au point que des lavages prolongés ne permettent pas de les éliminer complètement. C'est pourquoi on conseille, pour les dosages où une grande exactitude est nécessaire, d'incinérer le filtre et l'albumine et de déduire le poids des cendres ainsi obtenues de la quantité d'albumine brute primitivement trouvée.

Emploi de l'acide trichloracétique. — On peut, dans le dosage de l'albumine tel que nous l'avons indiqué plus haut, substituer l'acide trichloracétique à l'acide acétique. Mais si l'on maintient l'addition de 4 pour 100 de chlorure de sodium à l'échantillon d'urine, cette substitution est sans intérêt.

Il n'en est plus de même lorsqu'on se propose de doser l'albumine sans addition de sels à l'urine; l'acide trichloracétique permet alors d'obtenir une précipitation complète. Obermayer a vu, en effet, que cet acide formait avec l'albumine une combinaison instable que les lavages à l'alcool, à l'éther et la dessiccation détruisaient complètement.

D'après ces données, on peut doser l'albumine en ajoutant à l'urine filtrée 2 à 5 pour 100 d'acide trichloracétique : on porte à l'ébullition; le coagulum séparé sur un filtre taré est lavé d'abord avec une solution faible d'acide trichloracétique, puis à l'alcool, et enfin à l'éther. On sèche et on pèse comme précédemment.

II. — DOSAGE APPROXIMATIF DE L'ALBUMINE

Les procédés cliniques, c'est-à-dire applicables « au lit du malade », présentent pour le médecin un intérêt évident; aussi conçoit-on que l'on en ait proposé un grand nombre.

A. — Dans le cas particulier, un « procédé volumétrique », avec indicateur coloré ou autre montrant que la précipitation de l'albumine est achevée, rendrait de très grands services; il n'en existe pas actuellement d'une exactitude telle que son emploi paraisse devoir se généraliser, et c'est bien plus à titre d'exemple que pour en recommander l'usage que nous décrivons brièvement le suivant.

Procédé volumétrique à l'acide sulfosalicylique : A 10 ou 20 centimètres cubes d'urine diluée de 2 ou 5 fois son volume d'eau, on ajoute 11 gouttes d'une solution à 1 pour 100 d'acide amido-azo-benzol-disulfonique (Echtgelb des Allemands). Dans cette liqueur, on verse goutte à goutte au moyen d'une burette graduée une solution à 20 pour 100 d'acide sulfosalicylique jusqu'à coloration rouge brique persistante, indiquant la fin de la précipitation de l'albumine; un centimètre cube de la solution sulfosalicylique = 0,01006 d'albumine (Wassilyew).

Tanret a également fait connaître un procédé volumétrique, basé sur l'emploi de son réactif et du bichlorure de mercure comme indicateur.

B. — Les méthodes qui consistent à précipiter l'albumine par un réactif approprié et à mesurer le volume du précipité rassemblé au fond d'un tube gradué, pour en déduire la quantité d'albumine cherchée, sont à peu près les seules usitées dans les recherches cliniques. Nous décrirons rapidement la plus connue, qui est celle d'Esbach.

Méthode d'Esbach. — Dans le tube ou albuminimètre d'Esbach, on verse de l'urine filtrée jusqu'au trait marqué U et du réactif citro-picrique (acide picrique, 10 gr.; acide citrique, 20 gr.; eau, 1000), jusqu'au trait supérieur, marqué R. Après avoir bouché et renversé plusieurs fois le tube de manière à effectuer le mélange des deux liquides, on l'abandonne au repos pendant vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, on lit la graduation qui limite la partie supérieure du précipité, c'est-à-dire le chiffre qui indique la quantité d'albumine contenue dans un litre de l'urine examinée. Si l'urine renferme plus de 4 pour 1000 d'albumine et si sa densité est supérieure à 1008, il convient de la diluer.

Cette méthode fournit des résultats grossiers; les erreurs sont tantôt par excès tantôt par défaut; elle est surtout utile dans les cas où l'on se propose de suivre les variations du taux journalier de l'albumine chez un même malade; en opérant toujours dans les mêmes conditions de dilution et de température, on trouvera pour les rapports qui expriment ces variations des chiffres à peu près exacts. La température exercerait, en effet, une certaine

influence sur la densité du précipité (Schultz et Christensen). Nous l'avons constaté maintes fois, le tassement de l'albumine s'exagère par la chaleur. En d'autres circonstances les flocons d'albumine restent suspendus comme s'ils étaient incorporés à de la mucine, et l'on n'obtient leur précipitation que par une centrifugation prolongée. Peut-être pourrait-on modifier la graduation du tube d'Esbach par ce procédé (Brault, Lépinois).

III. — SÉPARATION DE LA SÉRINE ET DE LA GLOBULINE

Les réactions précédemment étudiées : coagulation par la chaleur, par la méthode de Heller, par le ferrocyanure acétique, sont applicables à la recherche de l'albumine proprement dite, c'est-à-dire au mélange de sérine et de globuline. Mais elles conviennent également pour les cas, exceptionnels d'ailleurs, où l'une ou l'autre de ces albumines existerait isolément dans l'urine. Nous savons, en effet, que ces deux substances possèdent un très grand nombre de propriétés communes; à part certaines particularités, difficilement appréciables, concernant leur pouvoir rotatoire et leur température de coagulation, il n'est guère qu'un seul caractère qui permette de les différencier nettement : il est relatif à leur solubilité dans l'eau ou dans les dissolutions salines.

a. — La sérine est soluble dans l'eau pure. Le sulfate de magnésie à saturation ne la précipite pas de ses dissolutions neutres (*en milieu acide il y a précipitation*).

b. — La globuline est insoluble dans l'eau pure, mais soluble dans les dissolutions salines faibles de chlorure de sodium et de sulfate de magnésie; le sulfate de magnésie à saturation la précipite de ces dissolutions en *milieu neutre*.

Méthode de Hammarsten. — Pour séparer la sérine de la globuline, on opère de la façon suivante :

Si l'urine est acide on l'additionne d'une lessive alcaline (soude ou potasse) très étendue, jusqu'à disparition de la réaction acide; il est commode pour cela d'employer de la soude déci-normale, que l'on ajoute jusqu'à virage de la *phthaléine*. Ceci fait, on laisse reposer, puis on filtre pour séparer les phosphates précipités.

A 50 centimètres cubes d'urine ainsi neutralisée et filtrée (à 100 centimètres cubes si l'urine est faiblement albumineuse), on ajoute 50 gr. de sulfate de magnésie pulvérisé; on agite pour favoriser la dissolution de ce sel et on abandonne le tout au repos pendant vingt-quatre heures. On rassemble ensuite le précipité sur un filtre Berzélius taré, on le lave avec une solution saturée de sulfate de magnésie jusqu'à ce que le filtratum ne précipite plus par la chaleur ou l'acide nitrique (sérine entraînée par les lavages). On porte alors le filtre à l'étuve à 100° pendant plusieurs heures, afin de rendre la globuline insoluble dans l'eau des lavages qui doivent être pratiqués après cette dessiccation. Ces lavages sont faits avec de l'eau chaude, jusqu'à ce que le filtratum ne contienne plus de sulfate de magnésie. On lave enfin à l'alcool et à l'éther, puis on pèse après dessiccation à 100°. Si l'on craint que les lavages n'aient été insuffisants, on peut incinérer le filtre et déduire le poids des cendres du premier résultat trouvé.

a. — Au lieu de peser directement la globuline, il est plus commode de

doser la sérine dans le liquide filtré après saturation par le sulfate de magnésie. Pour cela, on acidule le filtratum par l'acide acétique et on porte à l'ébullition (déjà à froid la simple addition d'acide acétique détermine la précipitation de la sérine); on filtre et on lave le précipité sur un papier Berzélius taré, on pèse. On a ainsi le poids de la sérine contenue dans un volume donné d'urine; si, d'autre part, on a dosé les albumines totales, on aura par différence le poids de la globuline.

b. — Hofmeister et Pohl recommandent un procédé analogue basé sur ce fait que la globuline est précipitée de l'urine par le sulfate d'ammoniaque, ajouté après neutralisation, jusqu'à demi-saturation. Ils emploient donc une solution saturée de sulfate d'ammoniaque qu'ils ajoutent à volume égal d'urine préalablement neutralisée par l'ammoniaque; la sérine reste en dissolution; la globuline séparée sur un filtre taré est lavée avec une solution à demi saturée de sulfate d'ammoniaque; on opère ensuite, comme précédemment. On peut craindre, en employant ce dernier procédé, que la globuline ne soit mélangée d'urate d'ammoniaque, aussi les auteurs conseillent-ils de filtrer aussitôt qu'un précipité blanc et floconneux de globuline apparaît, soit au bout d'une heure.

B. — RECHERCHE DES ALBUMOSES ET DES PEPTONES

Nous avons indiqué précédemment ce qu'on entend par « protéoses », « albumoses » et « peptones ». Nous avons défini les différentes variétés de protéoses qui correspondent aux divers stades du dédoublement, par hydrolyse ou par digestion, de la molécule d'albumine, à savoir : les *hétéroalbumoses*, les *protoalbumoses*, les *deutéroalbumoses*, et enfin les *peptones vraies*. A la vérité, les différences de réaction qui justifient ces distinctions ne sont que très peu marquées, surtout si l'on considère deux espèces voisines, les proto- et les deutéroalbumoses, par exemple. C'est pourquoi il est difficile, après avoir reconnu la présence d'une albumose dans l'urine, de l'identifier avec l'une quelconque de ces variétés.

Il est exceptionnel d'ailleurs que l'une d'entre elles se présente isolément. C'est habituellement un mélange de plusieurs variétés d'albumoses que l'on rencontre, accompagnant ou non la sérine et la globuline, dans le liquide urinaire. Néanmoins, si dans l'espèce une différenciation rigoureuse est impossible, on peut, de l'ensemble des caractères qui se dégagent des réactions observées, déduire que telle albumose est plus ou moins éloignée du type « peptone vraie » et plus ou moins voisine, par conséquent, du type « hétéroalbumose ».

Nous rappelons ici que la peptone vraie de Kühne (non précipitable par le sulfate d'ammoniaque à saturation) n'a jamais été rencontrée dans l'urine d'une façon certaine. Dans presque tous les cas observés de prétendue « peptonurie », il s'agissait d'albumosurie avec « deutéroalbumoses », substances d'ailleurs très voisines des peptones vraies de Kühne, et sensiblement identiques aux peptones de Brücke (non précipitables par le ferrocyanure acétique).

En somme, l'*albumosurie avec deutéroalbumoses* paraît constituer ce que l'on désignait autrefois sous le nom de *peptonurie*, alors que le terme « albumosurie » ou « propeptonurie » était réservé aux cas dans lesquels on avait ren-

contré des albumoses du type « hétéroprotéoses », albumoses souvent appelées « corps de Bence-Jones ». Ces remarques étant formulées, voici quelles sont les principales propriétés et réactions des albumoses :

Solubilité. — Comme la globuline, l'*hétéroalbumose* est insoluble dans l'eau pure, mais soluble dans les solutions salines faibles.

Les *proto-* et les *deutéroalbumoses* sont au contraire solubles dans l'eau pure.

Toutes les albumoses sont solubles dans les solutions salines faibles, dans les acides dilués, dans les alcalis et les carbonates alcalins.

Action du sulfate d'ammoniaque. — Toutes les albumoses en solution, soit neutre, soit faiblement acide ou alcaline, sont précipitées par le sulfate d'ammoniaque à saturation : Cette importante réaction les distingue des *peptones vraies* (Kühne).

Action du chlorure de sodium. — En liqueur neutre, le chlorure de sodium à saturation précipite : presque complètement les *hétéroalbumoses*; partiellement (1/2 environ) les *protoalbumoses*; il ne précipite pas du tout les *deutéroalbumoses*. — En liqueur acétique, les *protoalbumoses* sont complètement précipitées alors que les *deutéroalbumoses* ne le sont que partiellement par le chlorure de sodium à saturation.

Action de la chaleur. — 1° D'après Neubauer, Vogel et Huppert, une solution (en liqueur chlorurée sodique à 1 pour 100) saturée d'*hétéroalbumose* se trouble lorsqu'on la chauffe; la précipitation atteint son maximum à 60°. Le précipité est soluble dans un grand excès d'acide acétique, mais il résiste après élévation de température (au-dessus de 60°) ou après addition de chlorure de sodium.

2° Si on dilue cette même solution saturée d'*hétéroalbumose* avec un soluté de chlorure de sodium de concentration au moins égale à la sienne, on observe que le trouble produit sous l'influence de la chaleur est d'autant moins marqué que l'addition de sel a été plus grande; il arrive même, lorsque la proportion de chlorure de sodium est devenue suffisante, que toute précipitation (par la chaleur) cesse.

3° D'après Kühne et Chittenden, on peut, avec certaines solutions contenant du chlorure de sodium et des *hétéroalbumoses* en proportions convenables, observer la production d'un trouble laiteux sous l'influence de la chaleur, trouble qui disparaît à l'ébullition pour reparaitre pendant le refroidissement.

Ces réactions peuvent paraître assez obscures; néanmoins, nous avons cru devoir les signaler parce que nous pensons qu'elles peuvent expliquer certains des résultats si peu concordants présentés par quelques expérimentateurs concernant des urines chargées d'*hétéroalbumoses*. Elles montrent notamment que la concentration saline des liqueurs de même que le rapport existant entre les quantités de sel et d'albumose jouent un rôle important dans la précipitation de cette dernière par la chaleur.

4° Les solutions de *protoalbumoses* saturées de chlorure de sodium sont à peine précipitées par la chaleur; celles de *deutéroalbumoses*, dans les mêmes conditions, ne le sont pas du tout.

Action de l'acide nitrique. — Les solutions d'*hétéroalbumoses* sont précipitées par l'acide nitrique à froid; le précipité est soluble à chaud. Dans les mêmes conditions, les *deutéroalbumoses* ne sont précipitées qu'en présence du chlorure de sodium à saturation.

Réaction du ferrocyanure acétique. — En liqueur acétique, le ferrocyanure