

900.996B
/ R

EXERCICES PRATIQUES DE PHYSIOLOGIE

EXERCICES PRATIQUES

DE

PHYSIOLOGIE

A L'USAGE DES ÉTUDIANTS EN MÉDECINE

PAR

LÉON FREDERICQ

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE

LIÈGE
IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE
RUE SAINT-ADALBERT, 8

PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE & FILS
RUE HAUTEFEUILLE, 19
près du boulevard Saint-Germain.

1891



AVANT-PROPOS.

Ce petit livre est destiné à servir de guide aux étudiants en médecine, qui suivent mon cours d'exercices pratiques de physiologie.

Le texte courant se rapporte aux manipulations exécutées séparément par chacun des étudiants.

Le petit caractère est réservé aux expériences faites en commun par quelques-uns d'entre eux, opérant sous la direction du professeur ou de l'assistant, en présence des autres étudiants. Pour cette dernière catégorie d'opérations, j'ai pu me dispenser d'entrer dans des détails aussi minutieux que pour les expériences décrites dans le texte courant.

Je tiens à remercier MM. GERHARDT, de Bonn, GILKINET, professeur à l'Université de Liège, et MASOIN, secrétaire perpétuel de l'Académie de médecine, qui ont libéralement mis à ma disposition quelques-uns des bois intercalés dans le texte de cet opuscule. D'autres illustrations sont empruntées au manuel de physiologie que j'ai publié en collaboration avec mon collègue P.-J. NUEL; une vingtaine sont des gravures inédites.

PREMIÈRE PARTIE

CHIMIE PHYSIOLOGIQUE

Outillage de chaque place du laboratoire de chimie physiologique (1).

Chaque étudiant a à sa disposition :

Un meuble de chimie (2) en sapin rouge d'Amérique (hauteur 0^m.87), recouvert d'une tablette en chêne (1^m.48 × 0^m.65), surmonté d'une étagère à 2 rayons superposés et présentant sur le devant 3 tiroirs et 3 panneaux d'armoire.

Sur le côté du meuble : 2 robinets d'eau, un grand et un petit (ce dernier destiné exclusivement à l'alimentation du bain-marie à niveau constant ou du réfrigérant de Liebig), et une grande coquille en faïence, servant de décharge.

Sous l'étagère : 2 prises de gaz.

Sur les rayons : 25 flacons à réactifs numérotés : 1-4, acides chlorhydrique, nitrique, sulfurique et acétique glacial; 5, alcool; 6, éther; 7, chloroforme; 8, hydrate de sodium; 9, ammoniaque; 10-13, chlorure, phosphate, sulfure et oxalate ammoniques; 14, chlorure sodique (solution saturée); 15, ferro-cyanure potassique; 16, sulfate magnésique (solution saturée); 17, chlorure barytique; 18, 19, acétates neutre et basique de plomb; 20, sulfate cuivrique (solution 1 : 20); 21, chlorure ferrique; 22, chlorure mercurique; 23, réactif de Millon; 24, nitrate argentique; 25, eau iodée.

(1) Les objets constituant l'outillage d'une place sont tous marqués de la même lettre.

(2) Les meubles de chimie sont adossés par deux : la coquille, le grand robinet d'eau, le baquet, l'essuie-main et les allumettes sont communs aux deux étudiants qui se font vis-à-vis.

3 bocaux : 26, sulfate magnésique en cristaux ; 27, chlorure sodique en poudre ; 28, papiers réactifs (tournesol, curcuma et acétate de plomb) (1).

Sur la table : 2 brûleurs de Bunsen (fig. 1), bain-marie à niveau constant avec tube en caoutchouc pour l'arrivée de l'eau, et tube de décharge (fig. 26, n° 22), pissette à eau distillée (fig. 2), étagère avec 16 tubes à réaction (chacun d'environ 22 c. c. de capacité) (fig. 3).



Fig. 1.

Brûleur de Bunsen.

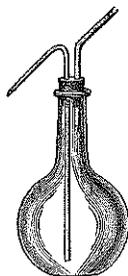


Fig. 2.

Pissette ou fiole à jet.

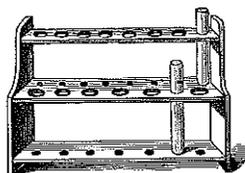


Fig. 3.

Étagère à tubes à réaction.

Dans le tiroir de gauche : paire de ciseaux, couteau, feuilles de papier à filtre, filtres moyens de 19 cent., petits filtres de 9 cent., étiquettes gommées, boyau de papier parchemin.

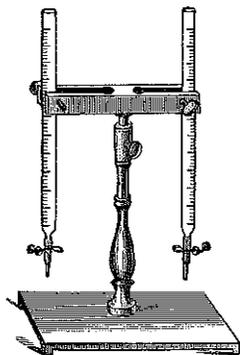


Fig. 4.

Burettes graduées.

Dans le tiroir du milieu : burette de 25 c.c. divisée en dixièmes de c.c., avec pince à pression (fig. 4), 3 pipettes jaugées (1 c.c., 5 c.c. et 10 c.c.), thermomètre dans son étui (-15° à + 200°), 2 petits verres de montre, 2 id. réunis par une pince-ressort, plaque de verre, bague de verre, chape de caoutchouc et baguette de baleine (pour le dosage de la fibrine).

Dans le tiroir de droite : bouchons, jeux de six perce-bouchons (fig. 5), pince mâche-bouchons (fig. 6), lime, brosse à rincer les tubes

(1) Une série unique de réactifs d'un usage moins fréquent est mise également à la disposition des étudiants.

à réaction (fig. 7), cuiller et spatule en corne, triangle pour creuset (fig. 31, n° 32), pince à creuset (fig. 8), toile métallique, bec papillon.

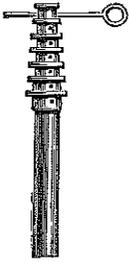


Fig. 5.

Jeu de perce-bouchons. Pince mâche-bouchons.



Fig. 6.



Fig. 7.

Brosse à rincer
les tubes à réaction.



Fig. 8.

Pince à creuset.

Dans l'armoire : compartiment latéral (côté de l'essuis-main) : 2 petits matras à fond plat (fig. 9), 2 supports à entonnoirs (fig. 10), 2 gobelets en verre épais et 3 vases de Berlin (fig. 11), 2 entonnoirs (diamètre 11 c.), 2 petits entonnoirs (diamètre 7 c.).



Fig. 9.

Matras à fond plat.

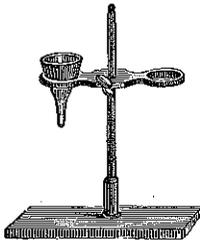


Fig. 10.

Support à entonnoirs.

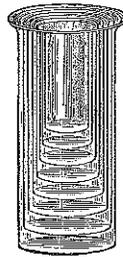


Fig. 11.

Série de gobelets



Fig. 12.

Mortier avec pilon.

Dans l'armoire : compartiment du milieu, avec planche : mortier avec pilon (fig. 12), 3 capsules en porcelaine (fig. 13), cristalliseur (fig. 14), exsiccateur (fig. 15), creuset avec couvercle (fig. 16), 2 grands verres de montre.



Fig. 13.

Capsule en porcelaine.

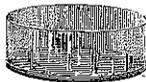


Fig. 14.

Cristalliseur.



Fig. 15.

Exsiccateur de Fresenius.



Fig. 16.

Creuset avec son
couvercle.

Dans l'armoire : compartiment latéral (côté du bain-marie) : support universel avec deux pinces et deux anneaux (fig. 17), étuve en cuivre rouge (fig. 18), trépied en fer (fig. 19).

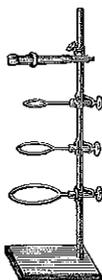


Fig. 17.

Supports avec anneaux et pinces.

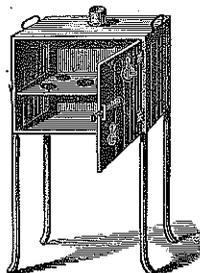


Fig. 18.

Étuve.



Fig. 19.

Trépied.

En outre : réfrigérant de Liebig (fig. 20), boîte d'allumettes, essuie-main, torchon, baquet; enfin, une cage d'évaporation pour quatre étudiants.

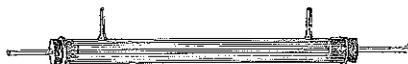


Fig. 20.

Réfrigérant de Liebig

Essai préliminaire de l'eau de la ville et de l'eau distillée mise à la disposition des étudiants.

L'eau de la ville, acidulée par quelques gouttes d'acide nitrique, se trouble par le nitrate d'argent; le précipité de chlorure d'argent se redissout dans l'ammoniaque, mais réapparaît lorsqu'on acidule de nouveau par l'acide nitrique : *présence de chlorures.*

L'eau de la ville se trouble légèrement par le chlorure de baryum; le précipité est insoluble dans les acides et les alcalis : *présence de sulfates à l'état de traces.*

L'eau de la ville, additionnée d'ammoniaque et d'oxalate d'ammoniaque, fournit un précipité, insoluble dans l'acide acétique : *présence de la chaux.*

L'eau de la ville contient également CO_2 , Na, etc.

Essai de l'eau distillée. Par Ag NO_3 , etc. — rien.

CHAPITRE I^{er}.

Le sang et les matières albuminoïdes.

I. — MATIÈRES ALBUMINOÏDES.

1. Les matières albuminoïdes contiennent : C, H, O, N et S. — Un petit fragment (un décigramme par ex.) d'albumine (blanc d'œuf séché à l'étuve) ou de fibrine sèche est chauffé avec précaution, au fond d'un tube à réaction, au-dessus de la flamme du brûleur de Bunsen. Une languette de papier de tournesol rouge et une seconde de papier à l'acétate de plomb (papier glacé) sont maintenues à l'entrée du tube. Il se dégage d'abondantes vapeurs empyreumatiques, noircissant le papier d'acétate de plomb (présence du *Soufre*), bleuissant le papier rouge de tournesol et sentant l'ammoniaque et la corne brûlée (présence de l'*Azote*), donnant sur les parties froides du tube, un dépôt de gouttelettes aqueuses (présence des éléments de l'eau, *Hydrogène* et *Oxygène*), et laissant au fond du tube un résidu de charbon noir et boursoufflé (présence du *Carbone*).

2. Réactions générales des matières albuminoïdes. — Diluez 10 c.c. de sérum (*) de bœuf avec dix fois leur volume d'eau;

(*) Nous employons le procédé suivant, pour obtenir à l'abattoir de Liège, le sérum exempt de matière colorante rouge : le sang de bœuf est reçu, au moment de la saignée, directement dans une série de petits gobelets (contenant chacun au maximum $\frac{1}{4}$ de litre), que l'on vient de laver avec une solution de chlorure de sodium à 10 % (afin que les gouttelettes d'eau qui se condensent pendant la saignée sur les parois froides des gobelets, se chargent d'assez de sel pour ne pas dissoudre de globules, au moment où elles se mélangent au sang). Les gobelets, remplis jusqu'au bord, sont laissés au repos à l'abattoir pendant 24 à 36 heures. Dès le lendemain, le sérum clair peut être recueilli, à la surface, dans chaque gobelet, au moyen d'une pipette.

A défaut de sérum, on pourrait employer le blanc d'œuf convenablement divisé au moyen de ciseaux, dilué avec de l'eau légèrement salée, et filtré.

ajoutez un peu de chlorure de sodium (3 à 5 c.c. de la solution saturée), afin de redissoudre éventuellement la paraglobuline, qui peut commencer à troubler le mélange, et pour ne pas abaisser la teneur en sels du liquide.

Pour exécuter chacune des réactions suivantes, il suffit de prendre environ 2 $\frac{1}{2}$ c.c. du sérum dilué (la moitié de la pipette de 5 c.c.), dans un tube à réaction.

Les réactions colorées (r. xantho-protéique, r. de Millon, r. du biuret) seront répétées avec un flocon de fibrine (1) suspendu dans 2 $\frac{1}{2}$ c.c. d'eau.

3. Coagulation par la chaleur. — Prenez trois échantillons de sérum dilué : *a*, *b*, *c*; à chacun d'eux, ajoutez 3 à 5 gouttes de teinture de tournesol, ou une petite languette de papier de tournesol.

a) est soumis directement à l'ébullition (agitez le tube au-dessus de la flamme, de manière à détacher le précipité d'albumine et à l'empêcher de coller au verre; usez de la même précaution, chaque fois que vous chauffez à feu nu, un liquide albumineux) : il se forme un précipité peu abondant, nageant dans un liquide trouble. La coagulation de l'albumine est incomplète, à cause de l'alcalinité naturelle du sérum.

b) est soumis à l'ébullition, après addition de 3 à 5 gouttes de soude. L'alcali empêche la coagulation de l'albumine et la transforme en albumine alcaline qui reste en solution. Neutralisez avec précaution, en ajoutant goutte à goutte de l'acide acétique dilué : l'albumine alcaline se précipite : elle est soluble dans un excès d'acide acétique.

c) est acidulé légèrement par addition d'une à deux gouttes d'acide acétique (dilué 1 : 5), puis soumis à l'ébullition : formation d'un précipité qui se rassemble, au bout de quelques instants, en flocons nageant dans un liquide clair ou légèrement opalescent.

Si vous ajoutez trop d'acide (5 à 10 gouttes ou davantage), l'albumine ne se coagule plus par la chaleur, mais se transforme en albumine acide, qui reste en solution. Il suffit alors de neutraliser le liquide par la soude, versée goutte à goutte, pour précipiter l'albumine acide : ce précipité se redissout dans un excès de soude.

Prenez deux flocons de fibrine pareils; soumettez l'un à l'action de l'eau bouillante : il prend une teinte grisâtre, devient opaque, et perd une partie de son élasticité; il n'a plus aucune action sur l'eau oxygénée; tandis que le flocon non bouilli se couvre de bulles d'oxygène, quand on le plonge dans l'eau oxygénée.

(1) La fibrine est obtenue à l'abattoir, par le battage du sang de porc. On la malaxe sous un courant d'eau, jusqu'à ce qu'elle soit à peu près blanche. Elle peut être conservée dans la glycérine : au moment de s'en servir, on la débarrasse de la glycérine, par le lavage à l'eau.

4. Coagulation par l'alcool. — Le sérum dilué (2 $\frac{1}{2}$ c.c.) est additionné d'alcool versé goutte à goutte (1/2 à 1 c.c. par ex.), jusqu'à ce qu'il se forme un précipité blanc à la partie supérieure du liquide. Au début, l'albumine est simplement précipitée (non coagulée); agitez vivement le liquide : le trouble se redissout complètement. Ajoutez ensuite un grand excès d'alcool (2 volumes au moins) : le précipité reparait et persiste, même après dilution ultérieure par l'eau.

5. Coagulation par les acides minéraux. — 2 $\frac{1}{2}$ c.c. de sérum dilué sont additionnés de 10 à 20 gouttes d'acide chlorhydrique : il se forme un précipité d'albumine coagulée. Ajoutez un excès d'acide chlorhydrique (2 $\frac{1}{2}$ c.c.) et faites bouillir le liquide : le précipité se redissout. Prolongez l'ébullition : le liquide prendra une teinte bleuâtre.

Dans les mêmes conditions, l'albumine de l'œuf, précipitée par HCl, ne se redissout pas ou se redissout avec difficulté.

6. Réaction xantho-protéique. — 2 $\frac{1}{2}$ c.c. de sérum dilué sont additionnés de 10 à 15 gouttes d'acide nitrique, puis soumis à l'ébullition : il se forme un coagulum qui se colore en jaune. Laissez refroidir (en agitant l'extrémité fermée du tube sous un filet d'eau froide), et ajoutez de la soude caustique, jusqu'à ce que le liquide et le coagulum prennent une belle couleur brun-orangé.

Un flocon de fibrine se colore pareillement en jaune, puis en brun orangé quand vous le faites bouillir avec de l'eau et de l'acide nitrique, et que vous saturez (après refroidissement) par la soude caustique.

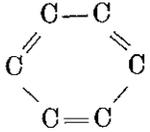
Il en est de même de plusieurs dérivés des matières albuminoïdes. Répétez l'essai avec une rognure d'ongle tenue en suspension dans un peu d'eau.

7. Réaction de Millon. — 2 $\frac{1}{2}$ c.c. de sérum dilué sont additionnés de liqueur de Millon (1 c.c.); il se forme un trouble ou un précipité blanc, qui, par l'ébullition, se rassemble en grumeaux roses, puis brun rougeâtre.

Répétez l'essai avec un flocon de fibrine, suspendu dans un peu d'eau : il se colore en rouge, puis en brun, par l'ébullition en présence de la liqueur de Millon. Si la liqueur n'est pas diluée, il n'est pas nécessaire de chauffer.

La liqueur de Millon non diluée colore également à froid, en moins d'une minute, la peau ou les ongles (matière cornée) en rouge foncé. Déposez une goutte de liqueur de Millon sur la paume de la main : il se forme une tache qui persistera pendant plusieurs jours.

La réaction de Millon est caractéristique des phénols et de tous les corps renfermant le groupe (OH) fixé sur le noyau



du benzol. Versez quelques gouttes de liqueur de Millon dans 2 $\frac{1}{2}$ c.c. d'eau phéniquée (eau saturée de phénol); le liquide se colore en rouge par l'ébullition. Si l'on ajoute beaucoup de liqueur de Millon (un égal volume), la coloration rouge se montre immédiatement, sans qu'il soit nécessaire de chauffer.

8. Réaction par le ferro-cyanure de potassium. — Le sérum dilué (2 $\frac{1}{2}$ c.c.) est acidulé par l'acide acétique (1 c.c. d'acide dilué 1 : 5), puis additionné de quelques gouttes (1 c.c. au plus) de ferro-cyanure de potassium. Ajoutez un excès de ferro-cyanure : le précipité se redissout.

Cette réaction est commune aux matières albuminoïdes naturelles, aux albumines acides ou alcalines et à la propeptone, mais n'appartient pas à la peptone.

9. Réaction du biuret. — Le sérum dilué (2 $\frac{1}{2}$ c.c.) est mélangé avec un égal volume de soude, puis additionné de 2 à 4 gouttes au plus d'une solution diluée (1 : 20) de sulfate de cuivre. Il se forme une liqueur d'un bleu violet, qui, portée à l'ébullition, vire légèrement au violet ou au rose violacé. La teinte rose violacée sera plus marquée, si vous faites bouillir le mélange d'albumine et de soude avant d'y ajouter le sulfate de cuivre.

Plongez un flocon de fibrine pendant une à deux minutes dans la solution de sulfate de cuivre, puis lavez-le rapidement à l'eau. Portée dans la solution de soude, cette fibrine prend une belle coloration violette. Faites bouillir le liquide : la coloration vire au rose; la fibrine se désagrège et se dissout.

La peptone, la propeptone, le biuret, et plusieurs substances ayant une constitution moléculaire analogue à celle du biuret, donnent, déjà à froid, avec le sulfate de cuivre et la soude, la coloration rose vineuse.

Une pincée de peptone commerciale (peptone de Witte ou autre), dissoute dans quelques gouttes d'eau, peut servir à cet essai.

Évitez d'employer un excès de sulfate de cuivre. Le sulfate de cuivre donne par la soude un précipité (ou une coloration) bleu d'hydrate cuivrique, qui noircit par l'ébullition (formation d'oxyde cuivrique noir). Exécutez cette réaction.

10. Précipitation par les sels des métaux pesants, par le tannin, par l'acide picrique, etc. — Le sérum dilué donne un

abondant précipité, quand on y verse quelques gouttes de bichlorure de mercure, d'acétate de plomb, de sulfate de cuivre, etc. Quelques-uns de ces précipités sont solubles dans un excès de réactif.

Esbach a basé sur la précipitation de l'albumine par l'acide picrique (solution 1 : 100), un procédé d'évaluation clinique de la quantité d'albumine contenue dans les urines pathologiques. (Voir plus loin au chapitre de l'urine.)

Pour l'action du suc gastrique sur les matières albuminoïdes, voir au chapitre de la digestion.

11. L'albumine ne diffuse pas. — Une partie (un tiers par ex.) de la solution d'albumine, saturée de sulfate de magnésium, ayant servi à préparer la paraglobuline (voir plus loin n° 14, p. 17), est versée par un petit entonnoir, dans un boyau (1) de papier parchemin, replié en U (fig. 21). Le boyau est suspendu au moyen d'une baguette de verre horizontale, comme le montre la fig. 21, dans un gobelet renfermant de l'eau de la ville (eau ne contenant que des traces de sulfates — voir p. 10). Attendez une heure au moins, puis prélevez au moyen d'une pipette, un échantillon de l'eau extérieure au dialyseur.

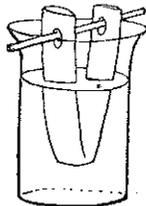


Fig. 21.
Dialyseur en forme
de boyau.

Cette eau donne les réactions des sulfates et du magnésium, mais non celles de l'albumine : précipité abondant par le chlorure de baryum, précipité par l'ammoniaque et le phosphate ammonique (précipité ne se formant pas toujours immédiatement); — absence de précipité par l'ébullition en présence de l'acide acétique dilué; absence de précipité par le ferro-cyanure de potassium et l'acide chlorhydrique; pas de réaction xantho-protéique; pas de réaction du biuret, etc.

La réaction de Millon ne pourrait servir à rechercher l'albumine que si le sulfate de magnésium avait été remplacé ici par le chlorure de sodium : en effet, le réactif de Millon précipite, en jaune (sulfate basique de mercure) par le sulfate de magnésium.

12. Les matières albuminoïdes sont lévogyres. — Le polarimètre Laurent (fig. 22), est installé dans un local peu éclairé (ou dans la chambre obscure). La lumière monochromatique jaune est fournie par un chalumeau à gaz (actionné par une trompe de Muencke), chauffant du sel marin fondu, renfermé dans une petite cuiller en platine (fig. 22, c) : la lumière est plus belle que celle des brûleurs ordinaires de l'appareil.

(1) Vérifiez au préalable si le boyau ne présente pas de trous. A cet effet, vous y verserez de l'eau : une goutte d'eau suintant à la surface du parchemin, indique un défaut. On peut badigeonner le trou avec une solution d'albumine et y passer ensuite un fer chaud. Il vaut encore mieux rejeter le boyau qui présenterait un trou, et le remplacer par un autre parfaitement étanche : leur prix est fort minime.

Cherchez à mettre l'appareil au zéro, en tournant le bouton (placé à droite, à la périphérie du grand cercle gradué) qui fait mouvoir l'oculaire analyseur

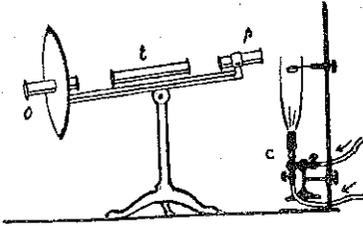


Fig. 22.

Polarimètre Laurent.

(o), jusqu'à ce que le champ circulaire, que vous apercevez par l'oculaire, vous paraisse uniformément éclairé. Vérifiez si votre détermination est exacte : le zéro du vernier doit correspondre au zéro de la partie la plus élevée du cercle gradué fixe. Introduisez dans l'appareil un tube de 10 c. (t), rempli d'une solution de para-

globuline (2 à 6 pour cent) dans le sulfate de magnésium (paraglobuline du sérum de bœuf, précipitée deux fois par le sulfate de magnésium. — Voir plus loin n° 14). Le champ circulaire est à présent divisé en deux moitiés inégalement éclairées, une moitié droite lumineuse, une moitié gauche obscure. Rétablissez l'égalité d'éclairage, en tournant l'oculaire de droite à gauche, de manière à suivre la rotation exercée par la paraglobuline; lisez sur le cercle gradué, la valeur de la rotation compensatrice, en vous servant du vernier (dont chaque division correspond à une minute, soit

$$\frac{1^\circ}{60} = 0^\circ.166\dots).$$

Exemple : Une solution de paraglobuline examinée dans le tube de 10 centimètres produit une déviation de $1^\circ.15'$, soit en fraction décimale $1^\circ.25$. Le pouvoir rotatoire de la paraglobuline α [D] étant $-47^\circ.8$ (c'est-à-dire que la solution à 1 %, considérée sous une épaisseur de 10 centimètres, dévie de $0^\circ.478$), il suffit de diviser $1^\circ.25$ par $0.478 = 2.6$, pour avoir la quantité en poids de paraglobuline contenue dans 100 c.c. de liquide. Le liquide en contient 2.6 %.

II. — SÉRUM DE BŒUF,

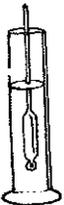


Fig. 23.

Aréomètre ou
pèse-urine.

13. Couleur, odeur, saveur, alcalinité, densité du sérum de bœuf. — L'odeur musquée du sérum s'exagère quand on y verse une goutte d'acide.

Une bande de papier de tournesol rouge, plongée dans le sérum, bleuit fortement.

Remplissez (au $\frac{4}{5}$) de sérum un petit vase cylindrique et plongez-y un petit aréomètre ou pèse-urine, gradué de 1000 à 1060 : le liquide affleure vers le trait 1029.

14. Paraglobuline. — *Ancienne méthode de préparation.* Diluez 10 c.c. de sérum de bœuf dans un gobelet avec vingt fois son volume

d'eau distillée ; ajoutez, goutte à goutte, de l'acide acétique au 5°. Les premières gouttes d'acide font apparaître un précipité de paraglobuline ; ajoutez un peu plus d'acide : le précipité se redissout.

Préparation par $Mg SO^4$ (méthode de Denis. et Hammarsten)
50 c.c. de sérum, sont saturés dans un gobelet avec du sulfate de magnésium en petits cristaux.

Ajoutez d'emblée assez de cristaux, pour que le sulfate occupe dans le fond du gobelet un peu moins de la moitié de la hauteur totale du mélange de sérum et de sulfate. Agitez pendant plusieurs minutes avec une cuiller en corne : ajoutez, s'il y a lieu, par petites portions, de nouvelles quantités de sulfate, tant que le sel se dissout, c'est-à-dire jusqu'à saturation complète.

Jetez le liquide avec le précipité de paraglobuline sur un filtre à plis (diamètre 19 c.), en laissant au fond du gobelet les cristaux non dissous de sulfate. La filtration demande plusieurs heures ; il est bon de laisser égoutter le précipité sur le filtre pendant un jour ou deux.

Enlevez le filtre de l'entonnoir, ouvrez-le complètement, et étalez-le à plat sur une plaque de verre, le précipité de paraglobuline tourné vers le haut. Pliez le filtre en deux, glissez-le entre plusieurs doubles de papier à filtre, et placez dessus la plaque de verre et un corps médiocrement pesant, faisant office de presse. Au bout d'un quart d'heure, d'une demi heure..., le filtre est suffisamment sec pour que le papier se détache de la paraglobuline, et que le gâteau jaunâtre de paraglobuline puisse être plié sur lui-même en 2, en 4, en 8, et finalement ramassé en une seule masse pâteuse. Une partie de cette pâte est délayée dans un peu d'eau (50 à 100 c. c. dans un gobelet), au moyen d'une baguette de verre ; la paraglobuline se redissout complètement, grâce au sulfate de magnésium qui l'imprègne. La solution est filtrée, puis reprécipitée par $Mg SO^4$: cette fois, le précipité est presque incolore.

Recueillez-le, dissolvez-en une partie, pour l'examen au polarimètre (voir n° 12), et, s'il y a lieu, pour répéter quelques-unes des réactions des matières albuminoïdes.

Une autre partie du précipité peut être abandonnée à la dessiccation spontanée sur le filtre, puis recueillie sous forme d'une masse d'un blanc-grisâtre, que l'on réduit facilement en poudre. Placez cette poudre dans un tube, avec l'étiquette : *paraglobuline de boeuf* + $Mg SO^4$.

Pour éliminer $Mg SO^4$, il suffirait de soumettre à la dialyse, la pâte détachée du filtre. Au bout de deux à trois jours, la paraglobuline serait recueillie au fond du dialyseur, sous forme de grumeaux insolubles dans l'eau distillée.

17. Albumine. — Le sérum privé de paraglobuline par $Mg SO^4$, contient l'albumine. Mettez le tiers du liquide de côté pour exécuter

l'expérience de dialyse indiquée au n° 11. Les deux tiers restants sont mesurés dans un cylindre gradué, et additionnés de quelques gouttes d'acide acétique non dilué (1 pour % du volume de la solution d'albumine) : l'albumine se précipite. Jetez-la sur un filtre à plis; vous la recueillerez le lendemain ou le surlendemain, sous forme d'une pâte jaunâtre. On peut purifier par redissolution et reprécipitation par $Mg SO^4$ et ac. acétique; on peut aussi précipiter la seconde fois, en saturant le liquide de sulfate ammonique. Le précipité séché est recueilli, et conservé dans un tube, avec l'étiquette : *albumine* + $Mg SO^4$, ou *albumine* + $(NH_4)_2 SO^4$, suivant le cas.

18. Sels et sucre du sérum. — Faites bouillir dans une capsule 40 c. c. d'eau avec 10 c. c. d'une solution saturée de $NaCl$ (ou de $MgSO^4$), et deux gouttes d'acide acétique; versez-y, goutte à goutte, au moyen d'une pipette, 10 c. c. de sérum, en ayant soin d'agiter avec une baguette. Filtré sur un filtre à plis. Recherchez dans le liquide filtré les :

Chlorures, par le nitrate d'argent;

Sulfates, par le chlorure de baryum;

Phosphates, par l'ammoniaque et le sulfate de magnésium.

La recherche du chlore ne peut évidemment se faire, que si on n'a pas employé $NaCl$; celle des sulfates, que si on n'a pas employé $Mg SO^4$.

Recherchez le sucre par $Na HO$ et quelques gouttes de $Cu SO^4$; faites bouillir : précipité rouge d'oxyde cuivreux. Voyez plus loin, au chapitre de la digestion, les procédés pour la recherche du sucre.

19. Ferment de la fibrine. — Introduisez dans un petit matras 5 à 10 centimètres cubes de sérum, ou 5 à 10 c. c. de sang exprimé d'un caillot. Ajoutez 50 à 100 c. c. d'alcool, bouchez et mettez de côté. Au bout d'une, ou mieux de plusieurs semaines, vous recueillerez le coagulum sur un petit filtre, le laisserez sécher par évaporation spontanée de l'alcool, et le pilerez dans un mortier avec 5 à 10 c. c. d'eau; filtrez et recueillez le liquide. C'est une solution de ferment, qui sera utilisée dans les expériences de coagulation du fibrinogène. (Voir nos 22 et 23.)

III. — PLASMA SANGUIN ET COAGULATION DU SANG.

20. Expériences sur la coagulation du sang. — Un grand chien (10 à 15 kilogr. au moins), anesthésié par la morphine (30 à 50 centig. de chlorhydrate de morphine en injection sous-cutanée), est attaché sur le dos, dans la gouttière de Cl. Bernard. Les deux jugulaires externes A et B sont mises à nu, isolées avec précaution, liées aux deux extrémités par des ligatures doubles, extraites, et suspendues verticalement. Dans l'une A, on glisse un stylet de verre (corps étranger), obtenu en étirant une baguette de verre dans

la flamme du brûleur de Bunsen; l'autre B, est abandonnée au repos. Au bout d'une heure, on ouvre A au moyen de ciseaux : on y trouve un caillot entourant le stylet. Au bout de plusieurs heures, on observe par transparence dans la veine B, la séparation du sang en plasma jaune, clair, surnageant, et en globules, formant une couche profonde, rouge, sombre. En ouvrant la veine, on constate que le sang qu'elle contient est resté liquide; le plasma qu'on en extrait ne tarde pas à se coaguler spontanément.

Une artère carotide est mise à nu : on lie le bout périphérique, et on introduit dans le bout central, une canule à laquelle fait suite un tube de caoutchouc. On saigne l'animal.

Chaque élève reçoit : 1° un échantillon de sang (20 à 30 c.c.), pour faire un dosage de fibrine (voir n° 21); et 2° un échantillon plus petit (une goutte), dans un tube de verre presque capillaire, effilé aux deux bouts (et scellé ensuite), afin d'observer la formation du sérum, et la rétraction du caillot.

Une goutte de sang, déposée sur une plaque porte-objet, et couverte d'une lamelle, sert pour l'examen microscopique.

D'autres échantillons de sang sont reçus respectivement :

a) Dans un gobelet de verre, sans aucune addition. Au bout de 6 à 12 minutes, le sang est pris en gelée cohérente; le gobelet peut être retourné, sans que le caillot se détache. Quelques gouttelettes de sérum ne tardent pas à se montrer à la surface du caillot, qui se détache du verre, et continue à se rétracter.

b) Dans un petit matras (exactement rempli), pour observer ultérieurement la rétraction du caillot moulé sur le vase.

c) Dans des tubes de métal, entourés de glace (saupoudrée de quelques grains de sel); le sang, refroidi rapidement à 0°, reste liquide, mais se prend en gelée dès qu'on le réchauffe.

d) Dans un gobelet contenant de la solution saturée de $MgSO_4$ (le tiers du volume de sang à recevoir.) Le sang ne se coagule pas; on attend le dépôt des globules (que l'on accélère par l'emploi de la machine à force centrifuge), pour recueillir le plasma surnageant. Il peut servir à répéter les expériences des nos 22, 23 et 24.

e) Dans une infusion de sangsue (sangsue tuée par le chloroforme, pilée avec quelques centimètres cubes d'une solution de NaCl à 5 %).

f) À l'abri de l'air, dans un tube renversé sur la cuve à mercure et rempli lui-même de mercure. La coagulation est seulement retardée.

21. Dosage de la fibrine. — Pesez, au décigramme près (sur une balance ordinaire), un appareil à défibriner de Hoppe-Seyler (très petit gobelet recouvert d'une chape en caoutchouc, traversée par la baguette de baleine servant à défibriner — fig. 24); notez le poids. Recevez dans cet appareil, 20 à 30 c.c. de sang (voir n° 20), remettez la chape en caoutchouc et défibrinez pendant dix minutes. Pesez à nouveau, pour avoir le poids du sang. La fibrine est recueillie sur la baleine, lavée à l'eau, en malaxant jusqu'à ce que le flocon n'ait plus qu'une teinte rosée. Recueillez pareillement les flocons qui pourraient ne pas s'être attachés à la baleine, et flotteraient dans le liquide. A cet effet, diluez le sang,



Fig. 24.

par petites portions, avec une grande quantité de solution de chlorure de sodium (1) à 1 % (une partie de solution saturée de NaCl pour 30 parties au moins d'eau). Une partie de ce mélange de sang défibriné et de solution de chlorure sodique, est abandonnée au repos dans une grande capsule, pour permettre aux globules de se déposer (voir plus loin n° 25).

Régalez la température de l'étuve, de manière qu'elle soit comprise entre 110 et 125°; placez-y pendant une dizaine de minutes, d'une part, deux verres de montre avec leur ressort, d'autre part, un petit filtre exempt de cendres. Au bout de dix minutes, vous retirez le tout de l'étuve, vous introduisez le filtre entre les deux verres de montre, vous appliquez ceux-ci l'un contre l'autre, au moyen de la pince à ressort et laissez refroidir complètement dans l'exsiccateur. Pesez, au milligramme près, sur une balance de précision.

Rappelez-vous que, dans ces pesées, l'objet à peser se place sur le plateau gauche de la balance, et les poids, que l'on manie au moyen d'une pince, sur le plateau droit; que la balance doit être arrêtée chaque fois que l'on enlève ou que l'on dépose un nouveau poids; que le cavalier (fig. 25), placé sur le fléau de la balance, sert à remplacer les poids des milligrammes (les poids servent pour les grammes, décigrammes et centigrammes); que chaque division du fléau correspond à un milligramme, dans la manœuvre du cavalier, etc. Notez le poids.

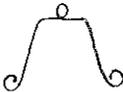


Fig. 25.

Placez le filtre taré sur un petit entonnoir, déposez-y le flocon de fibrine enlevé de la baguette, et ceux que vous auriez pu recueillir dans le sang défibriné; lavez à l'alcool, puis à l'éther. Enlevez filtre et fibrine, pliez, et déposez dans l'étuve sur les verres de montre; séchez à + 110° pendant au moins trois à six heures. Quand la dessiccation est terminée, introduisez le filtre entre les verres de montre, refermez, laissez refroidir dans l'exsiccateur, et pesez. L'augmentation de poids représente le poids de la fibrine et des sels insolubles.

Pour avoir le poids des sels insolubles, incinerez filtre et fibrine dans un petit creuset ouvert (voir fig. 31, n° 34), placé sur un triangle. Couvrez le creuset, laissez-le refroidir dans l'exsiccateur, et pesez avec les cendres; puis pesez de nouveau, après en avoir retiré les cendres.

22. Coagulation du plasma sanguin au $MgSO^4$ (2). — Diluez 5 c.c. de plasma de cheval au sulfate de magnésium, avec 20

(1) Il vaut mieux diluer le sang avec de l'eau; mais alors on ne peut plus employer le mélange pour en séparer les globules par décantation, comme cela est indiqué au n° 25.

(2) Procédé pour obtenir du plasma de cheval au $MgSO^4$. — On porte à l'abattoir un grand bocal cylindrique renfermant (jusqu'au cinquième de sa hauteur) de la solution saturée de $MgSO^4$; on achève de le remplir avec du sang de cheval (sortant de la veine ou du cœur),

volumes d'eau. Versez le mélange, par portions à peu près égales, dans huit tubes à réaction *a*, *a'*, *b*, *b'*, *c*, *c'*, *d*, *d'*. Ajoutez quelques gouttes de sérum incolore à *b* et *b'*, quelques gouttes de sang exprimé du caillot à *c* et *c'*, quelques gouttes de ferment de la fibrine à *d* et *d'*. Chauffez *a*, *b*, *c*, *d*, au bain d'eau à + 40° (gobelet plein d'eau, chauffé au bain-marie, — voir fig. 26, n° 24); abandonnez *a'*, *b'*, *c'*, *d'* à la température ordinaire. Notez le moment où la coagulation spontanée envahit chacun des tubes.

Les tubes *c* et *d* se coagulent les premiers.

23. Extraction du fibrinogène. — Saturer dans un gobelet, 50 c.c de plasma de cheval au sulfate de magnésium, avec du chlorure de sodium en poudre : il se forme un abondant précipité crémeux (mélange de fibrinogène et de paraglobuline); recueillez-le sur un filtre à plis (la filtration dure plusieurs heures). Exprimez filtre et précipité, entre plusieurs doubles de papier à filtre. Redissolvez le précipité dans 100 c.c. d'eau; filtrez, si ce liquide est trouble. Des échantillons de ce liquide sont abandonnés à eux-mêmes; d'autres sont additionnés de sérum ou de ferment; soumettez les uns à la température ordinaire, les autres à + 40°. Notez le moment de la coagulation de la fibrine, dans chacun de ces échantillons.

24. Détermination de la température de coagulation du fibrinogène.

— Une partie de la solution de fibrinogène obtenue au n° 23 (10 c.c.), additionnée du quart de son volume de solution saturée de $Mg SO^4$, est placée dans un tube à réaction, et chauffée graduellement au bain d'eau (gobelet chauffé au bain-marie), à côté d'un thermomètre (fig. 26). Un précipité floconneux se forme vers + 56° (fibrinogène); chauffez jusque vers + 58° à 60°, et filtrez sur un petit filtre; remettez le tube contenant le liquide filtré, dans le bain d'eau, et continuez à chauffer.

Un second précipité floconneux (paraglobuline) se montre vers + 75°.

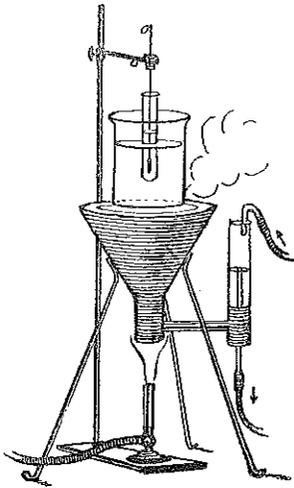


Fig. 26.

Appareil pour déterminer la température de coagulation des albuminoïdes.

jusqu'au $\frac{4}{5}$ de sa hauteur. On laisse reposer pendant deux jours; ou mieux, on introduit le liquide dans l'appareil à force centrifuge, qui sépare les globules en quelques minutes. On recueille au moyen d'une pipette le plasma surnageant. Si le sang a été reçu directement de la veine dans le sulfate de magnésium, le plasma ne contient que peu de ferment, ou même pas du tout; et les préparations *a* et *a'* du n° 22 n'ont que peu de tendance à se coaguler. Si le sang a été reçu d'abord dans un autre vase, puis versé dans la solution saline, le plasma contient du ferment et se coagule quand on le dilue avec beaucoup d'eau.

IV. — GLOBULES ROUGES.

25. Lavage des globules rouges. — Du sang défibriné pris à l'abattoir (ou le sang provenant du dosage de la fibrine, voir n° 21) est mélangé avec une grande quantité d'une solution saline diluée, n'attaquant pas les globules (solution Na Cl à 1 %, — la solution saturée de NaCl contient environ 33 % de sel), et abandonné au repos dans une capsule. Après dépôt des globules, on recueille ceux-ci en décantant le liquide surnageant. On peut répéter le lavage une ou deux fois.

26. Dissolution des globules rouges dans l'eau. — Dans chacun des deux tubes à réaction A et B, placez 5 c.c. de sang défibriné, ou un peu de bouillie de globules. Achevez de remplir A avec de l'eau distillée, et B, avec une solution diluée de chlorure de sodium (à 1 % par exemple). Le liquide du tube A devient transparent comme une laque, par suite de la dissolution des globules; le mélange reste opaque dans le tube B, les globules ne s'y dissolvant pas.

Pour faire une solution d'oxyhémoglobine, il suffit donc de dissoudre le dépôt des globules obtenu au fond de la capsule, dans l'opération n° 25.

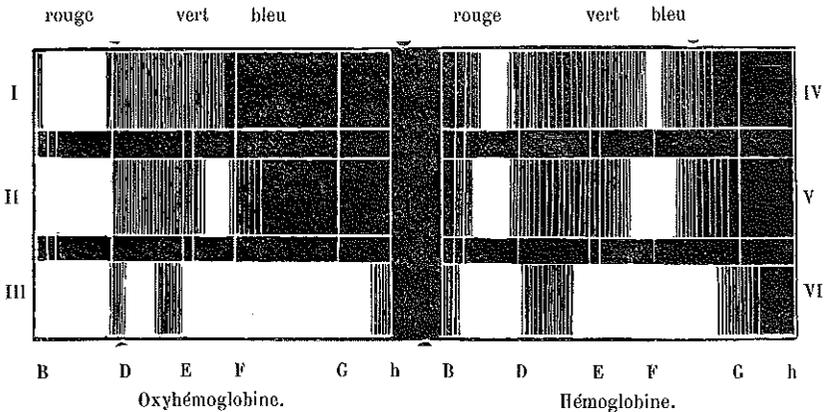


Fig. 27. — Spectres d'absorption des matières colorantes du sang.

- | | | | |
|-----|--|----|-------------------------------------|
| I | Oxyhémoglobine en solution concentrée. | IV | Hémoglobine en solution concentrée. |
| II | » » diluée. | V | » » diluée. |
| III | » » très diluée. | VI | » » très diluée. |

27. Spectre de l'oxyhémoglobine. — Diluez la solution d'oxyhémoglobine, de manière qu'elle présente une coloration rouge cerise. Versez-en dans un tube à réaction jusqu'à mi-hauteur et achevez de remplir avec de l'eau distillée, en évitant de trop mélanger les deux liquides. La partie supérieure doit tout au plus

avoir la couleur rose, *fleur de pêcher*. Examinez les différentes régions du tube au moyen d'un spectroscopé à vision directe; observez dans la partie supérieure les deux bandes de l'oxyhémoglobine (III, fig. 27); dans la partie moyenne (II, fig. 27) vous n'apercevez que du rouge et du vert, et dans le bas du tube, du rouge seul (I, fig. 27).

Refaites dans trois tubes, trois solutions de concentration croissante, et correspondant chacune à une des apparences spectroscopiques I, II, III.

Coloriez d'après nature, à l'aquarelle, les spectres de la figure 27.

La position de la raie D est facile à déterminer dans le spectre. Il suffit d'introduire dans la flamme éclairant le spectroscopé, un fil de platine recourbé en anse, et que l'on vient de plonger dans du chlorure de sodium en poudre : apparition de la raie D du sodium.

28. Spectre de l'hémoglobine réduite. — Ajoutez au tube qui a servi à la première expérience du n° 27, 3 gouttes de sulfure d'ammonium; mélangez, versez une partie du liquide, et remplacez-le avec précaution par une petite colonne d'eau distillée, dans le haut du tube; attendez quelques minutes. Faites les mêmes observations que tantôt (n° 27) au moyen du spectroscopé à vision directe. Dans le haut du tube : bande unique de l'hémoglobine réduite (VI, fig. 27); dans le bas, vous n'apercevez que la région rouge du spectre, et peut-être un peu de vert (IV, fig. 27).

Agitez vivement le liquide avec de l'air, pour faire réapparaître les bandes de l'hémoglobine oxygénée, et diluez s'il y a lieu.

29. Spectre de l'hémoglobine oxycarbonée. — Faites barboter du gaz d'éclairage (dans un flacon laveur), pendant une heure, à travers du sang ou une solution d'hémoglobine, et examinez au spectroscopé la solution diluée, présentant la teinte *fleur de pêcher*: bandes d'absorption analogues à celle de l'oxyhémoglobine *fleur de pêcher*. Notez que la bande la plus étroite ne touche pas D, mais laisse visible la région jaune du spectre, tandis que pour l'oxyhémoglobine, cette région jaune est recouverte par la bande d'absorption la plus étroite.

30. Comparaison de deux spectres superposés. — Faites la comparaison directe des deux spectres : A. *oxyhémoglobine* et B. *hémoglobine oxycarbonée*, au moyen d'un petit spectroscopé à deux prismes, qui superpose les deux spectres. Notez que la bande d'absorption la plus étroite et la plus voisine de D s'éloigne davantage du rouge, dans la direction du vert, pour l'hémoglobine oxycarbonée B, que pour l'oxyhémoglobine A. Il y a par conséquent plus de jaune visible dans le spectre de l'hémoglobine oxycarbonée. Ces bandes des deux spectres ne sont pas sur le prolongement vertical l'une de l'autre.

Ajoutez quelques gouttes de sulfure d'ammonium aux deux tubes A et B : la réduction s'opère dans le tube A (bande unique de l'hémoglobuline réduite), tandis que le tube B continue à montrer les deux bandes de l'hémoglobuline oxycarbonée.

31. Carmin et picrocarmin. — Examinez pareillement au spectroscope une solution ammoniacale de carmin, en la comparant à une solution d'oxyhémoglobine, et en faisant agir un corps réducteur.

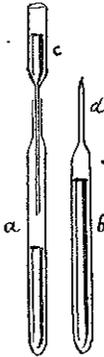


Fig. 28.

- a*, introduction de la solution d'hémoglobine dans un tube à conserver.
b, le même tube rempli et scellé.

32. L'oxyhémoglobine se réduit par la conservation en vase clos, mais ne se détruit pas par la putréfaction, à l'abri de l'air. — Introduisez avec précaution, au moyen d'un entonnoir très effilé (*c*, fig. 28), un peu de solution d'oxyhémoglobine diluée dans un tube (*a*, fig. 28); scellez-le à la lampe (*b*, fig. 28). Au bout de quelques jours, observez le changement de teinte et la bande unique d'absorption correspondant à la réduction spontanée de l'hémoglobine.

Refaites la même expérience avec la solution oxycarbonée. Cette solution conserve sa belle teinte rouge, et son spectre caractéristique, malgré sa conservation à l'abri de l'air. Étiquetez les tubes, et mettez-les de côté.

Toutes les expériences de spectroscopie sont répétées au moyen d'un grand spectroscope, installé à demeure dans la chambre obscure, et devant lequel on place successivement les solutions d'hémoglobine, d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine oxycarbonée, à différents degrés de concentration. La méthémoglobine, l'hémochromogène et l'hématine, en solution acide et en solution alcaline, présentent également des spectres d'absorption intéressants (voir fig. 29).

33. Cristaux d'hémoglobine. — Chaque étudiant reçoit sur un porte-objet, trois gouttes d'une solution concentrée d'hémoglobine ⁽¹⁾ de cobaye, que l'on conserve au laboratoire dans des tubes scellés. Cette hémoglobine passe au contact de l'air à l'état d'oxyhémoglobine, et commence à cristalliser. Recouvrez chaque goutte de sang d'une lamelle, et examinez au microscope à un grossissement moyen, tant à la lumière ordinaire qu'à la lumière polarisée (prisme de Nicol polariseur sous la platine du microscope, Nicol analyseur au-dessus de l'oculaire — interposez une plaque de gypse au-dessus du polariseur, et faites tourner l'oculaire analyseur — les cristaux d'hémoglo-

(¹) Sang de cobaye, défilbriné, soumis à la congélation, puis introduit après dégel dans des tubes de verre et conservé à l'abri de l'air. Il suffit de casser la pointe d'un des tubes et de l'incliner, pour laisser écouler à l'extérieur une goutte de sang.

bine prennent des tons pourpres, bleus, orangés, etc., du plus bel effet; ces cristaux sont biréfringents).

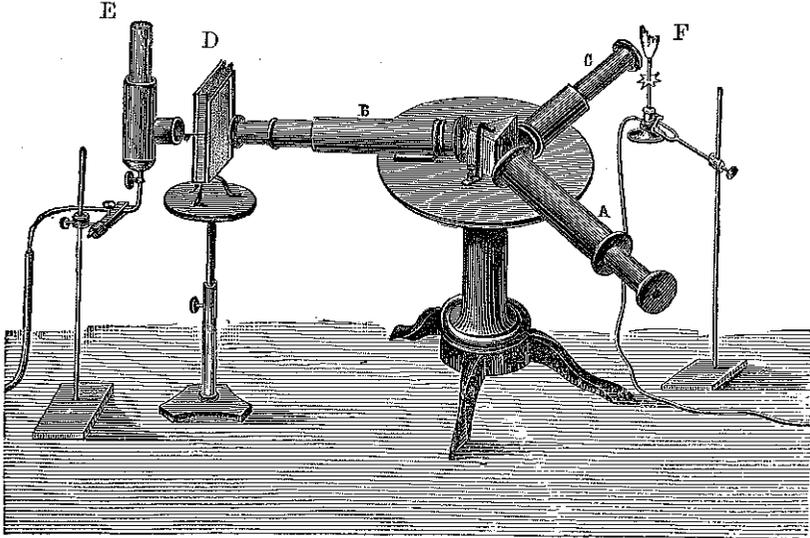


Fig. 29.

Spectroscope disposé pour l'examen du spectre d'absorption de l'oxyhémoglobine. Les rayons lumineux émanés de la lampe E, traversent la solution rouge contenue dans le vase à faces parallèles D (hématinomètre de Hoppe-Seyler), entrent dans le tube B, par une fente étroite, sont dispersés et réfractés par le prisme, et arrivent à l'œil de l'observateur par la lunette A. La lampe F sert à éclairer une échelle graduée contenue dans le tube C. L'image de cette échelle se réfléchit à la surface du prisme et vient se peindre à côté du spectre d'absorption.

On peut aussi déposer sur le porte-objet, une goutte de sang de cobaye, obtenue en faisant une légère coupure au pavillon de l'oreille, la laisser sécher sur les bords, ajouter une goutte d'eau et recouvrir d'une lamelle au bout de quelques minutes. La cristallisation s'établit souvent tardivement.

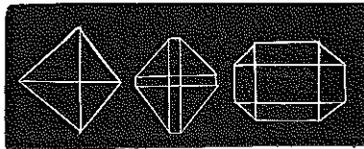


Fig. 30.

Cristaux d'oxyhémoglobine de cobaye
(tétraèdre simple et tétraèdres modifiés).

34. L'hémoglobine contient du fer. — Une partie de la bouillie de globules est desséchée dans une capsule au bain-marie,

puis incinérée avec précaution, dans un petit creuset ouvert (sous la cage d'évaporation). Il reste un résidu couleur de rouille (oxyde de fer). Laissez refroidir, ajoutez quelques gouttes d'acide chlorhydrique, pour dissoudre l'oxyde et y rechercher la présence du fer. A cet effet, diluez avec quelques c.c. d'eau et divisez en deux portions. A l'une, ajoutez quelques gouttes de solution de ferro-cyanure de potassium = précipité de bleu de Prusse. A l'autre, ajoutez quelques gouttes de sulfo-cyanure de potassium = précipité ou coloration rouge.

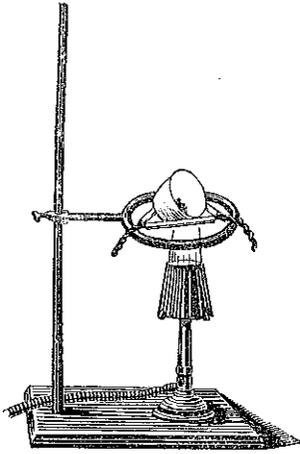


Fig. 31.

Calcination de l'hémoglobine dans un petit creuset en porcelaine.

35. L'hémoglobine se transforme à l'air en méthémoglobine. — Projetez quelques gouttes de sang sur du papier à filtre. Au bout de quelques heures, l'hémoglobine prend un ton brunâtre sale (méthémoglobine).

36. L'hémoglobine transporte l'ozone de l'essence de térébenthine à la résine de gayac. — Faites dans un tube à réaction, un mélange, à parties égales, d'essence de térébenthine (ozonisée : essence vieille) et de teinture de gayac fraîche (dissoudre un morceau de résine de gayac dans quelques c.c. d'alcool); agitez vivement. Versez quelques gouttes du liquide trouble ainsi obtenu, sur un morceau de papier à filtre; attendez que le liquide ait été bu par le papier et se soit évaporé en partie. Laissez tomber sur le papier une ou plusieurs gouttes de sang (ou de solution d'hémoglobine) : chaque goutte de sang s'entoure d'une auréole bleue, et finit par bleuir elle-même complètement.

Ajoutez quelques gouttes de sang au tube qui contient le reste du mélange de gayac et d'essence, et agitez vivement; la masse prend d'abord une coloration brun-verdâtre sale, puis franchement bleue.

Note. — Il est plus difficile d'obtenir la coloration bleue par l'action du sang seul (sans essence de térébenthine) sur la teinture de gayac.

37. Dosage colorimétrique de l'oxyhémoglobine, au moyen de l'hémoglobinomètre de Gowers.

L'instrument se compose :

a) D'une pipette très étroite, munie d'un tube aspirateur en caoutchouc, et destinée à mesurer 20 millimètres cubes de sang (aspirer jusqu'à la marque transversale).

b) D'un tube gradué, dans lequel on introduit les 20 mm. c. de

sang, et dans lequel on dilue par addition d'eau, jusqu'à ce que la teinte du mélange paraisse semblable à celle du liquide coloré contenu dans le tube étalon *d*.

c) D'une pipette à eau, servant à diluer le sang à l'intérieur du tube *b*.

d) Du tube étalon rempli d'une solution de picro-carmin, correspondant comme teinte à du sang humain normal, dilué au centième.

e) D'un bloc de liège percé de trous ; c'est dans ce bloc que l'on fixe verticalement, l'un à côté de l'autre, le tube gradué *b* et le tube étalon *d*. On place le tout sur fond blanc, devant une fenêtre.

Les divisions du tube gradué correspondent chacune à un volume (20 mm.) de sang ; elles indiquent par conséquent le nombre de volumes d'eau qu'il a fallu ajouter à un volume de sang, pour que la teneur en hémoglobine, soit la même que celle d'une solution de sang humain normal, au centième.

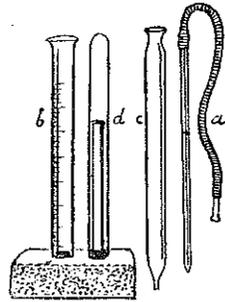


Fig. 32.

Hémoglobiomètre de Gowers

a, pipette de 20 mm. c. ;

b, tube gradué pour le mélange du sang ;

c, pipette pour diluer ;

d, tube étalon, renfermant du picro-carmin correspondant à la dilution au 100^e du sang normal.

38. Hématine. -- Versez de l'acide acétique dans une solution d'oxyhémoglobine : celle-ci est décomposée en albumine acide et en hématine, qui colore le liquide en brun-café. La même réaction s'établit, quoique plus lentement, avec l'oxyhémoglobine et la potasse.

39. Hémochromogène. -- La solution brune d'hématine, obtenue par l'action de la potasse sur l'oxyhémoglobine, est introduite dans un tube, scellée (voir fig. 28, n° 32), et conservée à l'abri de l'air : elle ne tarde pas, au bout de plusieurs jours, à se réduire, en se transformant en hémochromogène, qui est rouge. Cassez la pointe du tube, versez le liquide rouge sur fond blanc (assiette ou capsule de porcelaine), pour observer l'oxydation de l'hémochromogène et sa transformation en hématine brune.

Versez dans un grand tube, une solution d'oxyhémoglobine ou de sang, introduisez-y également un second tube plus petit, contenant une solution de soude, en évitant de mélanger les deux liquides. Scellez le grand tube à la lampe. Attendez quelques jours jusqu'à ce que l'hémoglobine se soit réduite spontanément, puis retournez le grand tube, de manière à provoquer le mélange de l'hémoglobine réduite et de la soude. Il se forme de l'hémochromogène (rouge), qui se transformera en hématine (brune), si vous ouvrez le tube, et si vous laissez le liquide exposé à l'air.

40. Hémine ou chlorhydrate d'hématine. — Pulvérisez dans le mortier un petit fragment de sang desséché; déposez-en une



Fig. 33.
Cristaux d'Hémine en préparation microscopique.
— Fort grossissement.

très petite pincée dans un verre de montre; ajoutez quelques gouttes d'acide acétique glacial et dissolvez à une douce chaleur au bain-marie. Renouvelez au besoin une ou deux fois l'acide acétique; évaporez jusqu'à consistance sirupeuse, puis versez une goutte du liquide épaissi, sur un porte-objet; recouvrez d'une lamelle et examinez à un fort grossissement: cristaux d'hémine. La préparation se conserve indéfiniment.

41. Détermination de la quantité totale de sang. —

Un petit chien de six kilog., anesthésié par la morphine (injection sous-cutanée de 15 ctg. de *chlorhydrate de morphine*) et le chloroforme (en inhalations), est fixé sur le dos dans la gouttière d'opération. On prépare la carotide et la jugulaire droites. Le bout périphérique de la carotide est lié, et une canule est introduite dans son bout central. On recueille directement par la saignée de la carotide, la plus grande partie du sang (environ 300 c.c.), que l'on mesure dans un cylindre gradué, après avoir défibriné.

Au bout d'une dizaine de minutes, la canule carotidienne ne fournit plus une goutte de sang. A ce moment, on la relie au moyen d'un long tube de caoutchouc, formant siphon, avec une grande bouteille remplie de solution physiologique (Na Cl à 0,7 o/o) et placée sur une console, à une hauteur de 2m50 au-dessus du corps de l'animal. Cette solution lave tout l'appareil circulatoire du chien et entraîne avec elle le sang qui restait dans les vaisseaux. Pour recueillir ce mélange de sang et d'eau salée, on introduit, par la jugulaire, jusque dans le cœur droit, un tube de verre, auquel on rattache extérieurement un bout de tube de caoutchouc, conduisant les liquides de lavage dans un vase *ad hoc*.

Pour déterminer le degré de dilution des eaux de lavage, on a recours à un dosage colorimétrique d'hémoglobine. (Voir : Hémoglobinomètre de Gowers, n° 37, p. 26). On recueille, par exemple, 3 litres de liquide sanguinolent, qui doivent être additionnés de 12 litres d'eau pour présenter la même teinte qu'une solution de sang au centième (10 c.c. de sang défibriné + 990 c.c. d'eau = 1 litre). Ces 15 litres de liquide correspondent à 150 c.c. de sang.

L'animal qui pesait 6000 gr. dans l'exemple choisi, contenait donc $300 + 150 = 450$ c.c. de sang, soit environ $\frac{1}{13}$ de son poids.

CHAPITRE II.

Gaz du sang et Respiration.

I. — GAZ DU SANG.

42. Action de O_2 et de CO_2 sur les globules rouges. —

Diluez du sang ou des globules rouges, obtenus par décantation, avec dix volumes d'une solution de NaCl (1 o/o); versez-en 50 ou 100 c.c. au fond d'un très grand gobelet; faites passer, alternativement, pendant cinq à dix minutes, un courant d'air (ou d'oxygène) fourni par la soufflerie d'une trompe à eau (formation d'oxyhémoglobine, coloration du sang artériel), et un courant d'un gaz inerte, tel que CO_2 ou H_2 (réduction de l'hémoglobine, coloration rappelant celle du sang veineux).

43. Extraction des gaz du sang par la pompe à mercure.

— Adaptez à la pompe à mercure d'Alvergniat (1) (fig. 34), un grand ballon R, à très long col, muni d'une tubulure latérale, avec tube *t* et robinet, pour l'introduction du sang. Tous les joints, tous les raccords sont noyés sous l'eau ou le mercure. Le ballon plonge dans une casserole remplie d'eau, qui repose sur un fourneau à gaz. Rattachez le tube à robinet *t* du grand ballon, à la trompe à eau,

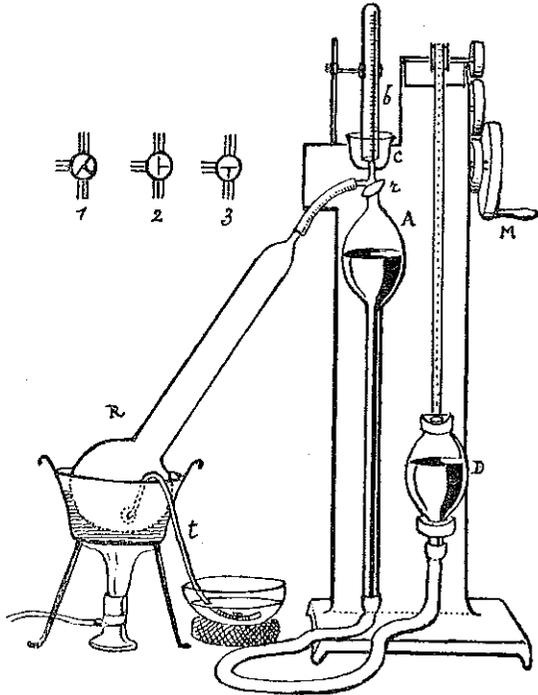


Fig. 34.

Pompe à mercure d'Alvergniat. D, boule mobile communiquant avec le tube barométrique terminé supérieurement par la boule fixe A; r, robinet à trois voies, fermant A dans la position 1, faisant communiquer A avec la cuve à mercure c dans la position 2, faisant communiquer A avec le récipient à sang R dans la position 3; t, tube pour l'introduction du sang, mesuré au préalable dans la pipette de la fig. 33; b, cloche graduée destinée à recueillir les gaz.

(1) Pour la description de la pompe à mercure et sa manœuvre, voir : Léon FREDERICQ et NUEL, *Éléments de Physiologie*, 1^{re} partie, 2^e édition, p. 53 et 54.

ce qui permet de faire un vide relatif et d'atteindre une pression ne dépassant pas 50 millimètres. Supprimez la communication avec la trompe à eau; puis, ouvrez légèrement le robinet noyé du grand ballon, de manière à faire entrer dans celui-ci par le tube *t*, quelques c. c. d'eau et refermez-le. Allumez le fourneau à gaz et chauffez l'eau à 50 à 55°. Achevez de faire le vide dans le grand ballon, par le jeu du robinet à trois voies *r*, combiné avec les mouvements d'ascension et de descente de la boule mobile *D* de la pompe à mercure.

Mettez à nu la carotide et la jugulaire d'un grand chien anesthésié. Observez la différence de teinte du sang artériel et du sang veineux. Puisez dans le bout central de la carotide, 50 c. c. de sang artériel au moyen d'une seringue graduée ou d'une pipette à déplacement (fig. 35), remplie de mercure;

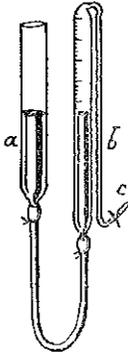


Fig. 35.

Appareil pour recueillir et mesurer à l'abri de l'air, le sang destiné à l'analyse des gaz.

b, récipient jaugé et gradué, rempli de mercure, pouvant être mis en rapport, soit avec l'intérieur d'une artère ou d'une veine, soit avec le récipient de la pompe à mercure.

a, réservoir mobile communiquant avec *b*.

au moyen d'une pipette à bec recourbé (fig. 36); 3° après absorption de l'oxygène par 2 à 3 c. c. d'acide pyrogallique introduits de la même façon. Toutes les lectures se font après immersion du tube pendant cinq minutes sous le mercure, et à la pression ordinaire de l'atmosphère.

Le volume de CO₂ est obtenu en soustrayant le vol. 2° du vol. 1°; celui de l'oxygène, en soustrayant le vol. 3° du vol. 2°; celui de l'azote correspond au vol. 3°. On double les volumes trouvés pour pouvoir les rapporter à 100 c. c. de sang et on les réduit à 0° et 760mm P., en se servant des coefficients des tables de réduction publiées par W. Hesse (Tabellen zur Reduction eines Gasvolumens. Braunschweig, 1879).

Répéter l'extraction et l'analyse pour 50 c. c. de sang veineux.

Exemple : Chien profondément anesthésié par la morphine, respirant lentement. 50 c. c. de sang artériel sont introduits dans la pompe à mercure et fournissent 24 c. c. de gaz.

1° Volume primitif :	24.0
2° Après absorption par KHO :	10.2, d'où CO ₂ = 13.8;
3° Après absorption par l'acide pyrogallique :	1.0, d'où O = 9.2;
	d'où N = 1.

La pression barométrique = 766mm, la température des gaz = 22°.

44. Analyse sommaire des gaz du sang artériel

— Le tube renfermant les gaz extraits du sang (n° 43) est bouché au moyen du doigt et transporté sur la cuve à mercure (fig. 36). Il est maintenu immergé sous le mercure pendant cinq minutes, au moyen d'une pince fixée à un support. Notez la température du mercure, qui peut être considérée comme donnant celle du gaz à analyser. Soulevez le tube à analyse et placez-le verticalement, de manière que le niveau du mercure à l'intérieur du tube, coïncide avec le niveau de la cuve à mercure : le gaz est à la pression barométrique. Notez la valeur de cette pression sur un baromètre à mercure. Notez le volume du gaz : 1° avant toute manipulation; 2° après absorption de CO₂ par 1 à 2 c. c. de solution potassique introduite

par 1 à 2 c. c. de solution potassique introduite

par 1 à 2 c. c. de solution potassique introduite

Répéter l'extraction et l'analyse pour 50 c. c. de sang veineux.

Exemple : Chien profondément anesthésié par la morphine, respirant lentement. 50 c. c. de sang artériel sont introduits dans la pompe à mercure et fournissent 24 c. c. de gaz.

1° Volume primitif :	24.0
2° Après absorption par KHO :	10.2, d'où CO ₂ = 13.8;
3° Après absorption par l'acide pyrogallique :	1.0, d'où O = 9.2;
	d'où N = 1.

La pression barométrique = 766mm, la température des gaz = 22°.

D'après les tables de Hesse, il faut diviser toutes les valeurs trouvées par le coefficient 1.07076, ou en chiffres ronds 1.07.

Les 50 c. c. de sang contenaient :

12.7	CO ₂ à 0° et 760mm P.
8.6	O
0.9	N

100 c. c. contiennent :

12.7 × 2 =	25.4 CO ₂
8.6 × 2 =	17.2 O
0.9 × 2 =	1.8 N

Dans l'exemple choisi, les valeurs trouvées pour CO₂ et O sont faibles, ce qui provient vraisemblablement de l'action de la morphine.

45. Les globules rouges, combinant leur action avec celle du vide et de la chaleur, décomposent le carbonate de sodium. — Une solution de carbonate de sodium (soumise au vide) est introduite dans le récipient de la pompe contenant encore le résidu de l'extraction des gaz du sang (n° 43).

Le carbonate est décomposé; et la manœuvre de la pompe permet d'extraire du récipient une grande quantité de CO₂ (gaz absorbable par KHO).

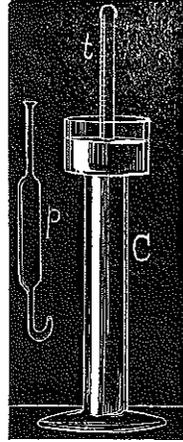


Fig. 36.

Cuve à mercure pour l'analyse des gaz extraits du sang, employée dans les laboratoires français.

C, cuve à mercure en verre.

t, cloche graduée contenant le gaz à analyser.

p, pipette pour introduire la solution d'acide pyrogallique.

II. — RESPIRATION.

46. L'air de l'inspiration contient fort peu (3 à 4 dix-millièmes) de CO₂. — Faites passer un grand volume (20 à 50 litres) d'air atmosphérique ordinaire, saturé d'humidité (par son passage sur une colonne de pierre ponce humide), successivement à travers deux tubes renfermant un volume connu d'une solution de baryte titrée (tubes de Pettenkofer, fig. 37), au moyen

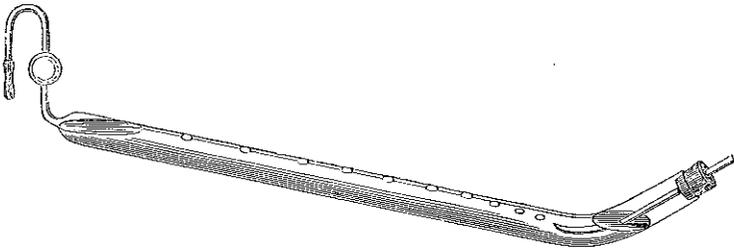


Fig. 37.

Tube à baryte de Pettenkofer.

d'un aspirateur servant en même temps à jauger le volume d'air servant à l'analyse (1). La baryte se transforme partiellement en carbonate, qui se dépose

(1) L'opération dure trop longtemps pour être exécutée en entier devant les étudiants. On commence l'expérience 12 à 24 heures à l'avance, de manière à en faire constater les résultats au cours d'exercices pratiques.

La solution de baryte qui sert aux analyses, est conservée à l'abri de CO₂ de l'air atmosphérique, dans un flacon spécial (fig. 38).

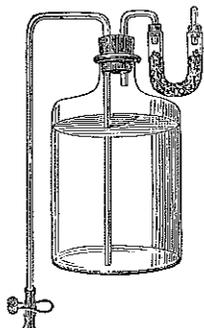


Fig. 38.

Flacon spécial pour la conservation de la solution titrée de baryte.

titrage de la Baryte (cette fois, 10 c.c. de Baryte affaiblie n'exigent plus pour leur neutralisation, que 16.4 c.c. d'acide oxalique, soit 3.6 c. c. en moins qu'avant l'opération. Les 50 c. c. ont donc perdu de leur titre l'équivalent de $5 \times 3.6 = 18$ c. c. de CO_2).

Les 50 litres d'air contenaient donc 18 c. c. de CO_2 , soit environ 3.6 dix-millièmes de CO_2 .

47. L'air de l'expiration contient beaucoup (4 à 5 %) de CO_2 . — Exécutez un certain nombre d'expirations à travers une pipette à robinet de 100 c.c., le robinet ayant été enlevé (fig. 39).

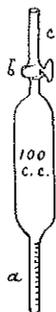


Fig. 39.

Pipette servant à doser CO_2 dans l'air de l'expiration.

sous forme de précipité blanc. A la fin de l'opération, la solution de baryte ainsi affaiblie, est recueillie, filtrée, et titrée. La différence de titre indique la quantité de CO_2 absorbée.

Le titrage de la baryte s'exécute au moyen d'une solution également titrée d'acide oxalique (1). On verse l'acide oxalique au moyen d'une burette graduée (fig. 4), d'abord par petites portions, puis goutte à goutte, dans un gobelet contenant un volume connu de la solution barytique, jusqu'à ce que cette dernière soit exactement neutralisée; la neutralisation est atteinte, lorsque la solution barytique ne brunit plus le papier jaune de curcuma.

Exemple : On avait introduit dans les deux tubes de Pettenkofer 50 c. c. de Baryte, correspondant à 100 c.c. de CO_2 (on contrôle le titrage de la Baryte en analysant le $1/5 : 10$ c.c. exigent pour leur neutralisation 20 c.c. de solution d'acide oxalique).

On a fait passer en 24 heures, à travers l'appareil, 50 litres d'air. A la fin de l'opération, nouveau

Refermez le robinet. Bouchez l'orifice inférieur de la pipette et portez-la sur une cuve à eau ou sur une cuve à mercure. Refroidissez le gaz de la pipette à une température connue, en maintenant la pipette à côté d'un thermomètre, sous un robinet débitant l'eau de la ville; faites la lecture du volume (en *a*, fig. 39), en ayant soin d'égaliser le niveau du liquide à l'intérieur et à l'extérieur de la pipette. Notez ce volume. Versez quelques c. c. de solution de potasse caustique dans le tube *c*, au-dessus du robinet *b*. Ouvrez ce dernier avec précaution, de manière à permettre à une partie de la potasse de pénétrer dans la pipette, dont vous bouchez avec le doigt l'orifice inférieur.

(1) La solution d'acide oxalique est composée de manière à ce qu'elle corresponde à un égal vol. de CO_2 ; elle renferme par litre 5 gr. 6431 d'acide oxalique cristallisé.

Continuant à boucher cet orifice, retournez la pipette plusieurs fois, de manière à promener la potasse à la surface interne du verre : introduisez au besoin une nouvelle quantité de potasse. Au bout de 5 minutes, l'absorption de CO_2 est terminée. Remettez la pipette sur la cuve à eau, sous le robinet débitant l'eau de la ville, puis égalisez les niveaux et faites une nouvelle lecture en *a*. La différence des deux lectures correspond au volume de CO_2 contenu dans l'air analysé.

Exemple : Volume d'air dans la pipette : 99,2 c. c. Volume d'air après absorption de CO_2 : 95,3 c. c., d'où $\text{CO}_2 = 3,9$ c. c. — L'air de l'expiration contenait donc environ 4 % de CO_2 .

Si vous voulez simplement constater que l'air de l'expiration contient des quantités notables de CO_2 , soufflez, au moyen d'un tube de verre, dans une solution de baryte, renfermée dans un verre à pied ou un gobelet, de manière à faire barboter l'air de l'expiration à travers la baryte : il se forme en peu d'instant, un abondant précipité blanc de carbonate de baryum.

48. L'air de l'inspiration contient 21 % d'oxygène. L'air de l'expiration en contient 17 %. — Analysez sur la cuve à mercure par le procédé sommaire indiqué au n° 44, p. 30, un échantillon d'air atmosphérique ordinaire, et un échantillon d'air de l'expiration.

Il est utile de refaire ces analyses par un procédé plus exact, par exemple au moyen des burettes de Hempel, de l'appareil de Geppert, ou par la méthode de Bunsen.

49. Un cobaye ou un pigeon produit beaucoup plus de CO_2 qu'un homme (par unité de poids). — Introduisez un pigeon ou un cobaye dans le récipient *A* de l'appareil de la fig. 40, à travers lequel vous

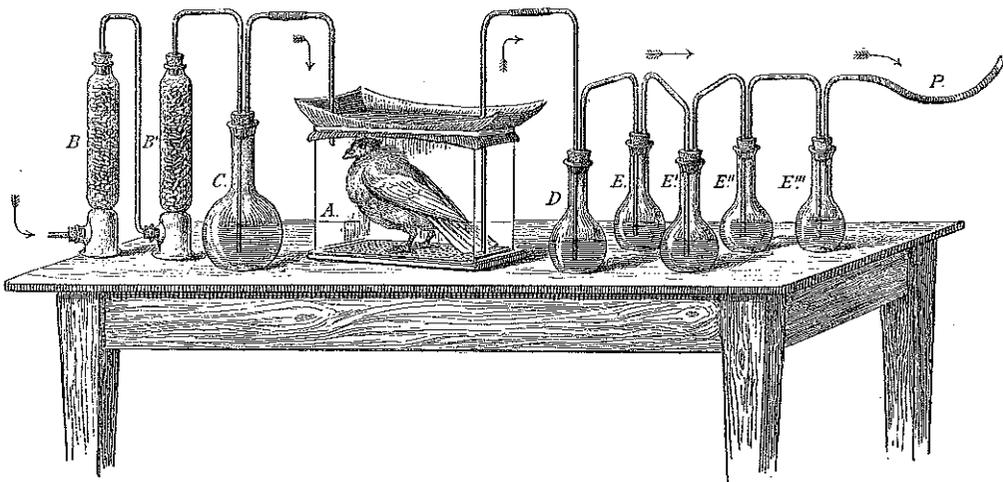


Fig. 40.

Appareil servant à doser CO_2 produit par la respiration du cobaye ou du pigeon.

B, B', vases à potasse destinés à retenir CO_2 de l'air qui entre dans l'appareil ; *C*, ballon témoin contenant de l'eau de baryte claire ; *A*, récipient en verre renfermant le pigeon ou le cobaye en expérience ; *D*, eau distillée ; *E, E', E'', E'''*, ballons contenant chacun 125 à 150 c. c. d'eau de baryte titrée ; *P*, tube aspirant l'air à travers tout l'appareil.

faites passer un courant d'air énergique, au moyen d'un aspirateur (trompe à eau) agissant en P. L'air qui pénètre dans l'appareil est privé de CO_2 dans les cylindres à potasse B, B'; il ne doit plus troubler l'eau de baryte du ballon C. Le ballon D contient de l'eau; les ballons E, E', E'', E''', renferment ensemble 500 c.c. d'une solution concentrée de baryte titrée.

Faites fonctionner l'appareil tant que la baryte du ballon E''' reste claire; arrêtez l'expérience dès que cette baryte commence à se troubler, ce qui arrive au bout d'une demi-heure à une heure. Terminez l'expérience en chassant rapidement un très grand volume d'air à travers l'appareil pendant deux ou trois minutes.

Après l'expérience, la baryte des ballons E', E'', E''', est réunie, mélangée et repassée une fois en entier à travers chacun de ces ballons, de manière à rendre le mélange bien homogène. Si vous êtes pressé, filtrez immédiatement une partie de cette baryte, puis déterminez-y le titre; mais il vaut mieux attendre le dépôt spontané du carbonate de baryum, et enlever au moyen d'une pipette la quantité nécessaire du liquide surnageant.

Connaissant la durée de l'expérience (30 minutes par ex.), le poids du cobaye (527 gr. par ex.), la quantité de baryte (500 c.c.), son titre avant (10 c.c. correspondant à 28.8 c.c. d'acide) et après (10 c.c. correspondant à 22.1 c.c. d'acide) l'expérience, il est facile de calculer la quantité de CO_2 produite par heure et par kilogr. d'animal. Dans l'exemple choisi, cette quantité

$$\frac{(28.8 - 22.1) \times 50}{527} \times 2 \times 1000 = 1270 \text{ c.c. de } \text{CO}_2, \text{ c'est-à-dire plusieurs fois la valeur de l'exhalation de } \text{CO}_2 \text{ (par kilogramme), chez l'homme.}$$

50. Un lapin consomme moins d'oxygène à la température ordinaire du laboratoire, que s'il est refroidi par une aspersion d'eau glacée. — Un gros lapin (L, fig. 41) respire au moyen d'une canule trachéale (*) et d'un tube en caoutchouc court et épais, l'oxygène de la cloche graduée O de l'oxygénographe (fig. 41). Les deux flacons laveurs A, sont intercalés sur le tube qui va du réservoir d'oxygène à l'animal. Ils font office de soupape, l'un servant à l'inspiration, l'autre à l'expiration. Les mouvements respiratoires de l'animal font ainsi barboter l'air à travers la solution chargée d'absorber CO_2 . Un petit flacon de Woulff KHO, à potasse solide, humide, se trouve encore intercalé sur le trajet du gaz respiré et achève de le débarrasser de CO_2 . De cette façon, la diminution du volume gazeux dans la cloche O, correspond exactement à l'oxygène consommé par l'animal : comme la cloche est équilibrée par un contre-poids automatique, elle s'enfonce progressivement dans le bain de chlorure de calcium R, à mesure que le volume du gaz diminue : la consommation de l'oxygène se lit directement par les changements de niveau à l'intérieur de la cloche graduée.

Notez, de minute en minute (chaque fois que l'aiguille des secondes d'une montre passe au-devant du trait 60), la position moyenne de la cloche (malgré les mouvements de va et vient dus à la respiration de l'animal), en ayant soin que ces annotations s'étendent sur une durée de 6, 10 ou 15 minutes. Il suffit

(*) Il n'est pas nécessaire d'attacher l'animal pour fixer la canule dans la trachée. L'opération ne paraît pas très douloureuse (on peut d'ailleurs anesthésier l'animal en lui injectant dans l'estomac 7 à 10 c.c. d'alcool dilués avec deux fois leur volume d'eau — attendre que l'anesthésie se soit dissipée avant de commencer le dosage d'oxygène). Un aide maintient les pattes du lapin de la main droite et tient solidement la tête de la main gauche, le pouce appuyé sur la mâchoire inférieure, tandis que les quatre doigts s'appliquent sur la voûte crânienne. L'opérateur qui fixe la canule dans la trachée, se place en face de l'aide, de manière à avoir le corps du lapin à sa gauche, la tête à sa droite.

Pendant le dosage d'oxygène, le lapin n'est pas attaché; on l'empêche seulement de se déplacer, en le maintenant à la main, ou en le plaçant dans le petit chariot spécial imaginé par le professeur Michel.

alors de multiplier le nombre trouvé par 10, par 6 ou par 4, et de diviser par le poids de l'animal, pour avoir la consommation d'oxygène du lapin par kilogramme-heure (faire la correction de température et de pression du gaz, d'après les tables de Hesse).

Refaites une seconde expérience dans les mêmes conditions, mais en ayant soin de placer l'animal sous un robinet permettant de l'asperger d'eau froide au début de l'expérience, ou pendant une partie de celle-ci.

L'animal consommera par exemple 600 à 800 c. c. par kilogramme-heure dans la première expérience et 900 à 1000 dans la seconde.

51. L'homme consomme moins d'oxygène (250 à 300 c.c.) par kilogramme-heure que le lapin et les petits mammifères.

— L'appareil représenté figure 42, sert à mesurer la consommation d'oxygène de l'homme. Il est construit sur le même principe que l'oxygénographe pour lapin de la figure 41. Le sujet respire par l'embouchure E (les narines étant bouchées par une pince à ressort), l'oxygène contenu dans la cloche mobile O, qui flotte sur un bain de chlorure de calcium. Sur le trajet du réservoir d'oxygène à la bouche du sujet, se trouvent intercalées les caisses *a* et *b*, contenant un mélange de chaux et de soude caustique, destiné à absorber l'anhydride carbonique. L'inspiration se fait à travers l'une des caisses *b*, l'expiration à travers l'autre, *a*, le sujet comprimant lui-même au moyen des doigts alternativement le tube *a*, ou le tube *b* (tubes en caoutchouc). La diminution de volume subie par le mélange gazeux renfermé dans la cloche O, à la fin de l'expérience, représente la quantité d'oxygène consommée; on ne mesure pas la quantité de CO_2 exhalée.

Je consomme par exemple, à jeun, en 15 minutes : 5 litres d'oxygène, soit par heure 20 litres. Comme mon poids est de 80 kilogr. cela fait 250 c. c. par kilogramme-heure.

Il est essentiel, dans cette expérience, que les poumons du sujet soient au même état de distension (expiration forcée par ex.), au début et à la fin de l'expérience : le sujet fera une expiration profonde à l'air extérieur avant de

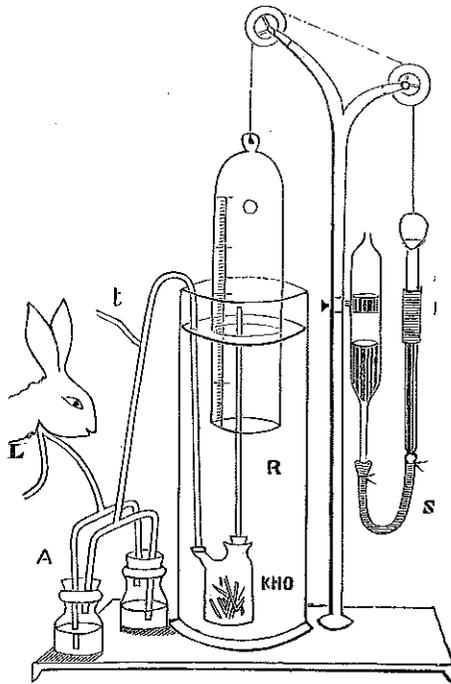


Fig. 41.

Oxygénographe. — Appareil destiné à mesurer et à enregistrer la consommation respiratoire d'oxygène du lapin.

L'animal respire (à travers les flacons laveurs à solution de potasse, figurés en A, et le flacon à potasse solide KHO) l'oxygène contenu dans la cloche graduée O. La cloche O est équilibrée automatiquement dans toutes ses positions par le contre-poids à siphon S.

Tel qu'il est représenté figure 41, l'appareil fonctionne comme oxygénomètre : le signal électro-magnétique, l'horloge et le cylindre servant à enregistrer la consommation de l'oxygène, ont été omis dans la figure.

s'appliquer l'embouchure E, au début de l'expérience. Au bout de 15 minutes, il termine en faisant une expiration profonde dans l'appareil, puis il détache l'embouchure E et ferme les tubes a et b.

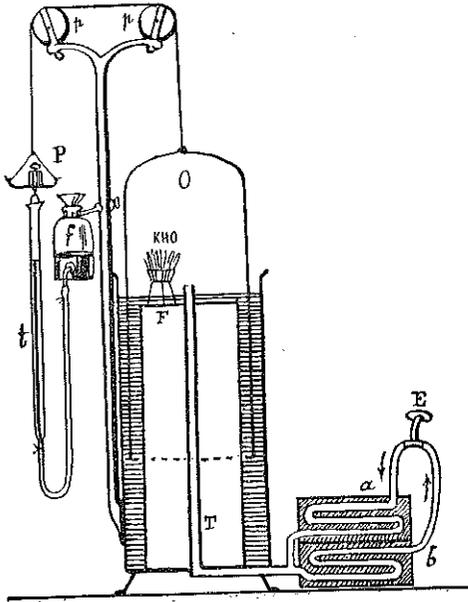


Fig. 42.

Appareil respiratoire applicable à l'homme.

E, embouchure en métal; a et b, caisses d'absorption remplies de chaux et de soude; a, trajet de l'air de l'expiration; b, trajet de l'air de l'inspiration; F, réservoir à double paroi renfermant une solution saturée de chlorure de calcium; T, tube allant des caisses d'absorption à la cloche d'oxygène O. La chaînette qui suspend la cloche O passe sur les poulies p, p, pour rejoindre le contre-poids automatique P; t, tube relié par un siphon au flacon f contenant du mercure; KHO, potasse.

Les grenouilles produisent par exemple 40 c.c. par kilogramme-heure à +18°, et seulement 5 c.c. à +1°.

53. Le quotient respiratoire $\frac{CO_2}{O_2}$ est inférieur à l'unité. —

Prenez un gros lapin portant une canule trachéale, rattachez-le à l'oxygénographe (voir fig. 41), pour déterminer sa consommation d'oxygène et la production de CO_2 . L'oxygène disparu est indiqué directement par la descente de la cloche; CO_2 se dose facilement pour une expérience de courte durée (6-10 minutes), au moyen de deux assez grands flacons à solution très concentrée de baryte titrée, remplaçant les deux petits flacons laveurs de l'oxygénographe. Supprimez le flacon à potasse KHO.

A la fin de l'expérience, détachez l'animal et remplacez-le par une forte seringue fonctionnant sous l'eau, et rattachée au tube de l'oxygénographe. Aspirez à différentes reprises le contenu gazeux de la cloche F, réinjectez-le à

La figure 43 montre les détails de la construction d'une des caisses d'absorption (imaginée par Schwann, 1868) : l'air respiré traverse un long canal plusieurs fois replié sur lui-même, et creusé dans une bouillie de chaux et de soude.

52. Un animal à sang froid produit plus de CO_2 à la température ordinaire qu'à 0°.

— Pesez ensemble 3 à 5 grenouilles que vous introduisez dans le récipient central de l'appareil, figure 44, construit sur le même principe que celui de la figure 40. L'air est privé de CO_2 à son entrée dans l'appareil : CO_2 produit par l'animal est retenu par la baryte de deux tubes de Pettenkofer. On titre la baryte avant et après l'expérience. Faites deux expériences pareilles : l'une avec des grenouilles conservées au laboratoire depuis plusieurs jours, et placées dans l'appareil à la température du laboratoire; l'autre avec des grenouilles conservées depuis la veille, dans un vase entouré de glace. Placez-les dans l'appareil respiratoire avec quelques morceaux de glace.

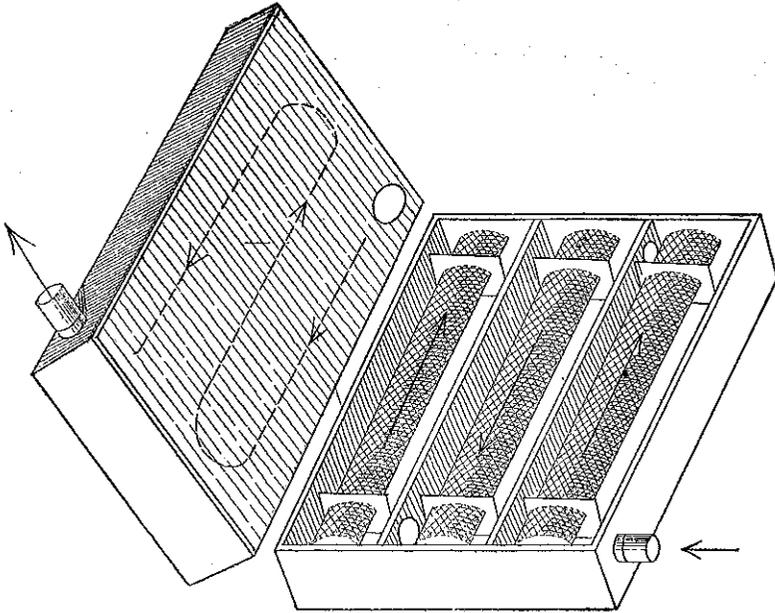


Fig. 43.

Caisse d'absorption de l'appareil représenté figure 42.

travers les flacons à baryte, de manière à faire absorber la petite quantité de CO_2 qui peut être restée dans l'appareil. Mélangez le contenu des deux flacons à baryte, et faites le titrage.

L'animal consommera par exemple 700 c. c. O_2 , par kilogramme-heure, il exhalera 600 c. c. CO_2 . Quotient respiratoire

$$\frac{6}{7} = 0.857 < 1.$$

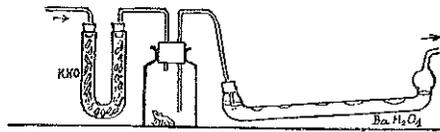


Fig. 44.

Schéma de l'appareil destiné à doser CO_2 produit par la grenouille. On n'a représenté qu'un tube à potasse et un tube à baryte.

54. L'oxygène pur, comprimé à plus de 3 1/2 atmosphères de pression provoque des convulsions et la mort. —

On introduit un moineau ou une souris dans le cylindre en verre de l'appareil de la fig. 45. Après avoir fixé solidement le couvercle en métal, on fait arriver de l'oxygène par le tube *t*. On le comprime à cinq atmosphères (pression mesurée au manomètre *m*), au moyen d'une petite pompe à main; puis on ferme le robinet *r*. L'animal ne tarde pas à présenter des convulsions et à mourir.

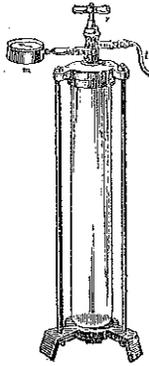


Fig. 45.

Appareil servant à comprimer l'oxygène à 5 atmosphères.

55. La respiration d'un mélange gazeux privé d'oxygène provoque les symptômes de l'asphyxie. — Faites sur un lapin anesthésié par l'alcool, une inscription de pression sanguine (manomètre relié à la carotide inscrivant le graphique de pression artérielle sur l'appareil enregistreur de Hering) et de respiration (sonde œsophagienne reliée à un tambour à levier, ou simplement tambour à levier relié au tube *t* de l'oxygénographe de la fig. 41).

Une canule a été placée dans la trachée de l'animal; elle sert à le relier à l'oxygénographe, au moment où l'on commence l'expérience d'asphyxie. Pour cette expérience, l'oxygénographe (voir fig. 41) est rempli d'hydrogène, les flacons A renfermant de la potasse.

L'observation de l'animal et des graphiques permet de distinguer un premier *stade de dyspnée* (durée : 35 secondes), puis de *convulsions* (durée : 35 secondes également), pendant lequel les mouvements respiratoires deviennent convulsifs et prennent le caractère de véritables accès d'expiration, auxquels participent presque tous les muscles du corps. En même temps, la pression artérielle monte (resserrement des vaisseaux abdominaux, dilatation des vaisseaux cutanés), quoique les battements du cœur soient fortement ralentis (excitation du centre d'arrêt du cœur).

Au bout d'un peu plus d'une minute, le stade de *dyspnée* et de *convulsions* fait brusquement place au *stade de paralysie*, qui débute par un long arrêt de la respiration. L'animal perd connaissance, et tombe sur le flanc (quand il n'est pas attaché); la pression sanguine baisse brusquement; il y a constriction des vaisseaux de la peau (observer ceux de l'oreille), et dilatation de ceux de l'intestin; la pupille est contractée; il se produit encore de loin en loin, quelques rares mouvements d'inspiration, qui vont en s'affaiblissant jusqu'à la mort. Les pulsations du cœur sont très accélérées, et persistent quelque temps après le dernier mouvement respiratoire. (Durée du stade de paralysie : une minute 30 secondes, jusqu'à la cessation des mouvements respiratoires; 3 minutes 30 secondes, jusqu'à l'arrêt du cœur.)

56. Les symptômes de l'empoisonnement par CO₂ sont différents de ceux de l'asphyxie. — On introduit dans un grand sac en caoutchouc (fig. 46) un mélange contenant 20 à 30% d'oxygène (au moins autant que l'air atmosphérique), 30 à 60 % de CO₂, et le reste d'azote. On vérifie la composition de ce mélange gazeux, en en faisant, sur la cuve à mercure, une analyse sommaire, d'après le procédé du n° 44, p. 30.

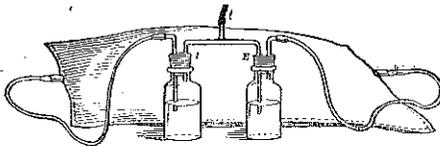


Fig. 46.

Sac en caoutchouc rempli d'un mélange de CO₂ et d'oxygène, que l'on fait respirer au lapin par le tube *t*, à travers les deux flacons laveurs E et I contenant de l'eau. L'inspiration se fait par le flacon I; l'expiration par le flacon E.

de valvules d'inspiration (et d'expiration), à un lapin, dont on prend en même temps (comme dans l'expérience n° 55), un tracé de pression sanguine et un tracé de respiration.

Après une courte période d'excitation (35 secondes en moyenne), s'établit une narcose paisible, qui peut se prolonger pendant plusieurs heures.

CHAPITRE III.

Digestion.

I. — SALIVE.

57. La salive digère l'amidon et le glycogène. — Ecrasez dans le mortier un très petit fragment d'amidon. Faites-en bouillir une pincée dans un tube à réaction avec 5 c. c. d'eau, en ayant soin d'agiter. Attendez que l'empois d'amidon ainsi formé se soit refroidi, et ajoutez-y un peu de salive. (On provoque une salivation abondante en faisant agir sur l'intérieur de la bouche des vapeurs d'éther.)

Au bout de peu de minutes, le liquide contient un sucre réducteur. Ajoutez-y un peu (1 c. c.) de soude et quelques gouttes de solution de sulfate cuivrique, et faites bouillir : la liqueur est réduite et il se précipite de l'oxyde cuivreux rouge. (Réaction de Trommer. Voir n° 58.)

Répétez la même expérience, mais en faisant bouillir la salive avec l'eau, de manière à détruire le ferment diastatique avant d'ajouter l'amidon, puis faites bouillir de nouveau. La recherche du sucre par la soude et le sulfate de cuivre donne cette fois un résultat négatif. Le sulfate de cuivre est précipité par la soude à l'état d'hydrate cuivrique bleu. L'hydrate passe à l'état d'oxyde cuivrique noir, lorsqu'on fait bouillir le liquide.

2 $\frac{1}{2}$ c. c. d'une solution concentrée de glycogène (solution laiteuse) sont additionnés d'un peu de salive, et maintenus à une température voisine de celle du corps (tenir le tube en main ou le chauffer au bain d'eau). Observez la disparition du glycogène : le liquide opalescent s'éclaircit graduellement. Il présente les réactions de la glycose (n° 58).

58. Réactions de la glycosé. — Les réactions suivantes se font dans un tube à réaction avec de l'urine de diabétique (1) :

1° *Réaction de Trommer.* Ajoutez au liquide sucré (2 1/2 c. c.), un peu de lessive de soude (1 c. c.) et quelques gouttes de solution de sulfate de cuivre : l'hydrate cuivrique formé se redissout avec une belle couleur bleue. Faites bouillir le mélange : la glycosé réduit le composé cuivrique à l'état d'oxyde cuivreux, qui forme un précipité rouge; en même temps, le liquide se décolore.

2° *Réaction de Böttger.* Faites bouillir le liquide (2 1/2 c. c.), avec la lessive de soude (1 c. c.) et une petite pincée de sous-nitrate de bismuth (en poudre) : la glycosé réduit par l'ébullition le sous-nitrate à l'état de bismuth métallique, qui se dépose sous forme de précipité noir. Le réactif de Nylander (liqueur alcaline de bismuth) peut servir à faire la même réaction.

3° *Essai par la soude.* Chauffez le liquide (2 1/2 c. c.) à l'ébullition, après l'avoir additionné de lessive de soude (1 c. c.) : le liquide se colore en jaune ou en brun, suivant la quantité de glycosé présente.

59. Fermentation alcoolique de la glycosé. — Observez la levure de bière en préparation microscopique, à un fort grossissement.

Ajoutez un peu de levure de bière (1 c. c. lavé au préalable à l'eau) dans un tube à réaction, au liquide contenant du sucre (5 c. c.); chauffez à + 40° au bain d'eau : la fermentation s'établit bientôt; le liquide mousse abondamment, et répand une odeur alcoolique.

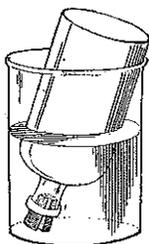


Fig. 47.

Appareil pour la recherche clinique de la glycosé dans les urines.

gaz, le liquide s'étant échappé par l'ouverture ménagée dans le bouchon.

C'est le procédé le plus sûr pour la recherche du sucre dans les urines diabétiques (quand on n'a pas de polarimètre à sa disposition). Tout médecin peut l'exécuter facilement, sans le secours de réactifs ou d'ustensiles de chimie.

On introduit l'urine et la levure dans une fiole à médecine que l'on remplit exactement. On bouche au moyen d'un bouchon de liège présentant latéralement un petit canal (fait au canif, par deux entailles longitudinales se rejoignant), pour empêcher que le bouchon ne saute pendant la fermentation. On retourne la fiole, on la plonge le col en bas dans un verre rempli de la même urine, comme le montre la figure 47.

On conserve le tout à une douce chaleur (au soleil ou près du feu). S'il y a du sucre, il ne tarde pas à fermenter : les bulles de CO₂ montent et se rassemblent au haut de la fiole, qui, au bout d'un certain temps, se trouve remplie de

(1) L'urine de diabétique convient parfaitement pour les exercices de recherche et de dosage du sucre. On peut la conserver facilement à l'état de sirop, que l'on dilue au moment de s'en servir. Ce sirop s'obtient en évaporant l'urine de diabétique à une basse température, au bain marie, dans de grandes assiettes ou dans des capsules plates. Si le sirop est très épais, il ne tarde pas à laisser déposer une abondante cristallisation (dextrose ou dextrose + Na Cl).

60. Dosage de la glycose par fermentation. — L'appareil de la figure 48 permet de doser la glycose par fermentation. La solution sucrée additionnée de levure, est introduite dans le matras A; puis on pèse l'appareil. La fermentation s'établit bientôt; les bulles de CO_2 se dégagent à travers le matras B (contenant de l'acide sulfurique destiné à retenir l'eau entraînée par le courant de CO_2).

Quand la fermentation est terminée (c'est-à-dire au bout de deux jours au moins), on fait passer un courant d'air à travers les deux matras pour entraîner au dehors tout le CO_2 , puis on pèse de nouveau l'appareil; la perte de poids indique la quantité de CO_2 formée; celle-ci est proportionnelle à la quantité du sucre contenue dans le liquide.



Fig. 48.

Appareil pour le dosage de la glycose par fermentation.

61. Dosage de la glycose par le polarimètre. — Le pouvoir rotatoire du sucre de diabète (dextrose) est $(\alpha) D = + 53^\circ$. Il est donc facile de doser cette substance optiquement, lorsqu'on dispose d'une certaine quantité de liquide, et que celui-ci est transparent et peu coloré. Au besoin on décolore par l'acétate de plomb. Pour le maniement de l'instrument, voir n° 12, fig. 22, p. 16.

Les urines de diabétiques contiennent assez souvent des substances lévogyres, à côté de la dextrose. On en est averti par un manque de concordance entre les chiffres faibles du dosage par le polarimètre, et ceux plus forts du dosage par la liqueur de Fehling.

62. Dosage de la glycose par la liqueur de Fehling. — Introduisez dans un petit matras à fond plat, 20 c.c. de liqueur cupro-potassique de Fehling (1) (correspondant à 10 centigr. de sucre de diabète); ajoutez quatre volumes d'eau. Faites bouillir le mélange, en ayant soin d'interposer une toile métallique entre le fond du matras et la flamme du brûleur (fig. 49). Pendant que la liqueur bleue est en ébullition, versez-y, au moyen d'une burette et par petites portions, le liquide dans lequel vous voulez titrer le sucre (urine de diabétique diluée au dixième

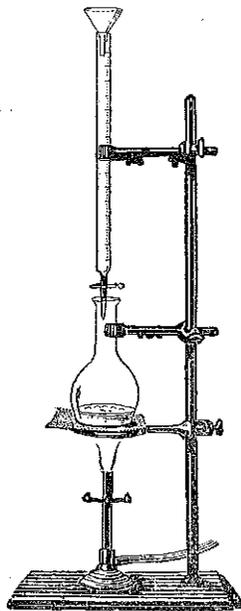


Fig. 49.

Dosage de la glycose par la liqueur de Fehling.

(1) Préparation de la liqueur titrée de Fehling. — On dissout d'une part, 34 gr. 65 de sulfate de cuivre pur, cristallisé, dans environ 160 c. c. d'eau; et, d'autre part, 173 gr. de tartrate cupro-potassique pur, dans 600 à 700 gr. de lessive de soude (densité : 1.12). On mélange les deux liquides et l'on dilue de manière à faire exactement un litre. La liqueur de Fehling est assez altérable. On recommande de la conserver à l'abri de l'air, de la lumière et des variations de température, dans une série de petits flacons exactement bouchés.

avec de l'eau distillée), jusqu'à ce que la liqueur bleue du matras soit exactement décolorée.

Pour juger de la décoloration, il faut cesser de temps en temps l'ébullition afin de permettre au précipité rouge d'oxyde cuivreux de se déposer. Observez le liquide surnageant, sur fond blanc. Opérez à la lumière du jour.

Une fois la décoloration du liquide bleu atteinte, l'opération est terminée. Lisez à la burette, en c. c., le volume d'urine diluée au dixième qui a été nécessaire pour réduire les 20 c. c. de sel cuivrique. Ce volume correspond à 10 centigr. de sucre (1).

Exemple : Il a fallu 40 c. c. d'urine diluée au 10^e pour amener la décoloration des 20 c. c. de liqueur de Fehling : ces 40 c. c., ou les 4 c. c. d'urine auxquels ils correspondent, contenaient donc 10 centigrammes de sucre. Si 4 c. c. d'urine contiennent 10 centigr., 100 c. c. contiendront 2 gr. 5 de sucre.

II. — SUC GASTRIQUE.

63. Fistule gastrique. — On fait chez le chien (anesthésié et attaché sur le dos), une incision longitudinale suivant la ligne blanche, à partir de l'appendice xyphoïde; on divise les parois abdominales jusqu'au péritoine,

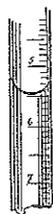


Fig. 50.

Portion de burette graduée observée au niveau du ménisque de la liqueur titrée.

qu'on fend sur la sonde cannelée. On attire dans la plaie, au moyen du doigt et de la pince, la partie de l'estomac sur laquelle on veut pratiquer la fistule; on la fixe circulairement à la paroi abdominale au moyen de points de suture; on pratique une boutonnière au centre de la partie de l'estomac ainsi délimitée, on y introduit la canule gastrique que l'on fixe au moyen de nouveaux points de suture.

On attend que l'animal soit remis des suites de l'opération. Il suffit alors de déboucher la canule et d'exciter la muqueuse stomacale, soit mécaniquement, soit par le contact de substances irritantes (alcool, poivre, solutions alcalines, etc.), pour provoquer une sécrétion plus ou moins abondante, et recueillir du suc naturel.

64. Le suc gastrique naturel contient un acide minéral. — Le suc gastrique recueilli par la fistule (n° 63) rougit fortement le papier de tournesol bleu.

Essai par le Violet de méthyle. Si on mélange le suc gastrique naturel avec un égal volume d'une solution aqueuse très diluée de violet de méthyle, le

(1) Pour toutes les lectures du niveau du liquide, dans les tirages au moyen de la burette, il est indispensable de placer l'œil exactement à la hauteur de la surface courbe (ménisque) du liquide. On fait la lecture du trait de la graduation de la burette qui est tangent à la partie inférieure courbe du ménisque.

Dans la figure 50, la position du ménisque indique un peu moins de 5.5 c. c.

liquide prend une coloration bleue (acide minéral). On répète le même essai avec une solution diluée d'acide minéral (acide chlorhydrique à 2 : 1000, obtenu en mélangeant 6.5 c.c. d'acide chlorhydrique fumant avec un litre d'eau), puis avec une solution diluée d'acide organique (acide lactique). L'acide chlorhydrique seul bleuit (puis verdit) le violet de méthyle.

Essai par la Phloroglucine et la Vanilline. On mélange le suc gastrique avec un égal volume d'une solution alcoolique de *Phloroglucine* et de *Vanilline* (2 gr. *Phloroglucine*, 1 gr. *Vanilline* et 100 c.c. alcool), on évapore au bain-marie dans un verre de montre en évitant l'ébullition du liquide. Il reste une tache rouge, indiquant la présence d'un acide minéral. On répète le même essai avec de l'acide chlorhydrique à 2 ‰ : résultat positif; puis avec de l'acide lactique : résultat négatif.

Essai par la Tropéoline OO. On mélange le suc gastrique (5 c. c.) avec quelques gouttes de *Tropéoline OO* en solution alcoolique : coloration rose indiquant la présence d'un acide minéral. On répète le même essai avec de l'acide chlorhydrique à 2 ‰, puis avec de l'acide lactique. L'acide minéral seul donne la coloration rouge avec la tropéoline OO.

65. La dissolution de la fibrine dans le suc gastrique ⁽¹⁾ exige la présence d'un ferment (pepsine) et d'un acide (H Cl). — Versez 5 c.c. de suc gastrique artificiel dans chacun des 4 tubes à réaction *a, b, c, d*. Faites bouillir *a*; neutralisez exactement le contenu de *b* (ajoutez une languette de papier de tournesol), en y versant goutte à goutte de l'ammoniaque très diluée (1 : 100 par ex.); laissez *c* à la température ordinaire et chauffez *d* au bain d'eau (voir fig. 51) entre + 35° et + 40°.

Ajoutez un flocon de fibrine à chacun des tubes. La fibrine se dissout rapidement dans *d*, lentement dans *c*, pas du tout dans le liquide neutralisé *b*, et pas du tout dans le liquide bouilli *a*.

Répétez les mêmes expériences, en vous servant de tranches minces de blanc d'œuf cuit, au lieu de fibrine. Le blanc d'œuf est dissout moins rapidement que la fibrine.

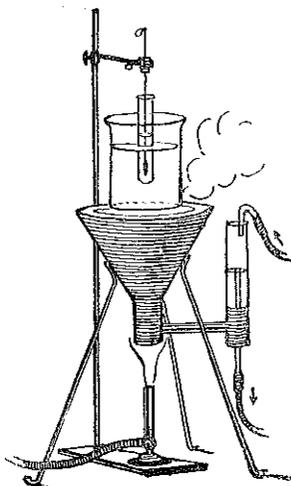


Fig. 51.

(1) *Préparation du suc gastrique artificiel* Un estomac de porc est ouvert, rincé à l'eau, et cloué sur une planche par sa face péritonéale. La muqueuse est enlevée au moyen de la pince et du scalpel, puis coupée en morceaux et hachée. On laisse macérer les fragments, pendant 24 heures, avec un litre d'eau additionné de 8 c.c. d'acide chlorhydrique fumant du commerce. Le tout est placé dans des capsules plates, et remué à différentes reprises. Le lendemain, on décante le liquide clair, on le passe à travers un linge, et on le filtre au besoin. Le résidu de muqueuse est traité une seconde fois, et même une troisième fois par un litre d'eau acidulée par H Cl. On obtient de cette façon trois litres de suc gastrique assez actif.

66. La pepsine transforme la fibrine d'abord en syntonine, puis en propeptone et en peptone. — Placez dans un petit gobelet 5 gr. de fibrine avec 50 c.c. de suc gastrique, chauffé à + 40°. Maintenez le tout à cette température (dans le bain d'eau chauffée au bain-marie), pendant 3 à 4 heures. La fibrine gonfle, devient transparente et ne tarde pas à se dissoudre complètement. Prélevez au bout d'une heure un échantillon (5 à 10 c.c.) du liquide; neutralisez cet échantillon exactement, en y versant goutte à goutte, de l'ammoniaque très diluée. Il se forme un précipité de *syntonine*. Filtré sur un petit filtre.

Le liquide filtré contient peu de *propeptone*, et probablement pas de *peptone*. Essayez la réaction du Biuret, par la soude et deux gouttes de sulfate de cuivre (voir n° 9).

Au bout de 2, 3 ou 4 heures, le reste du liquide dans lequel la digestion a continué à parcourir ses phases, est neutralisé pour précipiter la *syntonine*, puis filtré. Le liquide filtré est saturé de sulfate d'ammoniaque en poudre, qui précipite la *propeptone*. Recevez le précipité sur un petit filtre; laissez-le égoutter, et recueillez-le, en exprimant le filtre entre du papier à filtre, puis en pliant le filtre sur lui-même, comme il a été dit lors de la préparation de la paraglobuline (voir n° 14, p. 17).

Dissolvez la propeptone dans un peu d'eau et divisez-la en quatre parties *a, b, c, d* dans des tubes à réaction :

- a*) sert à refaire la réaction du *Biuret*;
- b*) est additionné d'un excès d'alcool qui précipite la propeptone;
- c*) est additionné d'un peu d'acide nitrique : la propeptone se précipite mais se redissout si l'on chauffe. Le précipité peut reparaitre par refroidissement du liquide;
- d*) est additionné d'un peu de ferro-cyanure de potassium : précipité blanc.

Le liquide saturé de sulfate d'ammoniaque, et d'où la propeptone s'est séparée, ne contient que fort peu de *peptone*, au bout de 3 heures de digestion. Prenez un échantillon de ce liquide dans un tube à réaction (2 1/2 c.c.), ajoutez-y un excès de soude, jusqu'à ce qu'il se forme un précipité cristallin, puis ajoutez très peu de sulfate de cuivre : faible réaction du Biuret.

Pour obtenir beaucoup de peptone, il faut prolonger la digestion pendant huit jours, à l'étuve réglée pour une température de + 40° (étuve d'Arsonval).

On peut ajouter 1-2 pour mille d'acide salicylique pour empêcher la putréfaction. Le liquide contient au bout de huit jours presque autant de peptone que de propeptone.

67. La propeptone injectée dans les veines chez le chien, suspend la coagulation du sang et provoque une baisse considérable de la pression sanguine. — Un petit chien anesthésié reçoit par la veine jugulaire externe une injection de propeptone à 10 % (le

liquide est contenu dans une burette dont le bec est relié à la canule veineuse; il suffit d'ouvrir le robinet de la burette, pour que le liquide s'écoule dans la veine par son propre poids). On injecte 0gr.2 de propeptone par kilogramme d'animal. On inscrit la pression sanguine au moyen du manomètre à mercure : on constate une chute considérable de cette pression. La pression se relève ultérieurement.

On recueille des échantillons de sang que l'on compare avec un échantillon pris avant l'injection. Le sang ne se coagule plus : il reste liquide jusqu'au lendemain.

68. Le suc gastrique contient un ferment qui précipite la caséine. — Prenez dix centimètres cubes de lait chauffé à 40° dans un tube à réaction, ajoutez-y quelques gouttes (1 c.c.) du liquide provenant de la caillette (4^e estomac) du veau. Si le liquide a toute son activité, le lait est complètement coagulé en moins d'une minute. Le coagulum adhère au tube, de sorte que l'on peut retourner celui-ci sans que rien s'écoule.

Au bout d'un certain temps, le coagulum commence à se rétracter, avec formation d'un sérum clair dans lequel il nage.

A défaut de présure de veau, on peut employer le suc gastrique artificiel fabriqué avec la muqueuse de l'estomac de porc. Neutralisez-le exactement au moyen de quelques gouttes d'ammoniaque très diluée. Ce suc est beaucoup moins actif que le liquide de la caillette du veau.

Refaites les mêmes expériences à la température ordinaire, puis en employant une seule goutte de solution de présure. La coagulation se produit de la même façon, mais au bout d'un temps assez long.

III. — SUC PANCRÉATIQUE.

69. Le suc pancréatique artificiel contient un ferment diastatique qui digère l'amidon et le glycogène (1). — Opérez exactement comme au n° 57, avec la seule différence que vous remplacez la salive par du suc pancréatique artificiel.

70. Le suc pancréatique artificiel peptonise la fibrine et l'albumine en solution alcaline ou neutre. — Dans chacun des trois tubes à réaction *a*, *b*, *c*, placez 5 c.c. de suc pancréatique avec une languette de papier de tournesol. Neutralisez exactement *a* par de l'acide chlorhydrique très dilué; acidulez *b* par de l'acide chlorhydrique dilué; et laissez à *c*, sa réaction alcaline. Ajoutez à chaque tube un flocon de fibrine et maintenez-les à + 40° (au bain d'eau).

(1) Pour préparer du suc pancréatique artificiel, on fait macérer pendant 24 à 48 heures, du pancréas de bœuf haché, dans une solution à 2 % de carbonate de sodium. On ajoute au mélange quelques gouttes d'une solution alcoolique de thymol, afin d'empêcher la putréfaction.

La fibrine est attaquée rapidement dans le liquide alcalin *c* et s'y résout en petits fragments, puis en granules; elle se dissout plus lentement dans *a* qui est neutre, et pas du tout dans *b* qui est acide.

Recherchez la peptone, par la réaction du Biuret, dans le liquide de *a* et de *c*.

Répétez les mêmes expériences, en opérant à la température ordinaire : dissolution infiniment plus lente de la fibrine; puis répétez-les avec des liquides soumis au préalable à l'ébullition : destruction du ferment (trypsine), et absence de digestion de la fibrine.

71. Le suc pancréatique artificiel et le tissu du pancréas saponifient les graisses. — Agitez de l'huile d'olive (1 c.c.) neutre (1) avec du suc pancréatique (2 1/2 c.c.) dans un tube à réaction : il se forme une émulsion laiteuse permanente. Le liquide devient acide. Examinez l'émulsion au microscope.

Répétez l'expérience avec 1 c.c. d'huile et 2 1/2 c.c. d'eau (au lieu de suc pancréatique). Agitez : il ne se forme pas d'émulsion.

Un morceau de tissu du pancréas est appliqué contre un carré de papier bleu de tournesol imbibé d'huile d'olive neutre et placé sur une plaque de verre. Il se forme autour du tissu pancréatique une auréole rouge, indiquant la saponification et l'acidification de la graisse.

72. Absorption intestinale de la graisse. — Un chien maintenu à jeun pendant 24 heures, reçoit, en une fois, un repas copieux, riche en graisse (pâtée composée de : lait 600 gr., graisse de viande 325 gr., viande 75 gr., pain 75 gr., semoule 110 gr. — pour un chien de 10 kilogr.).

3 à 4 heures après le repas, l'animal est anesthésié par le chloroforme. On ouvre l'abdomen suivant la ligne blanche : les chylifères à la surface de l'intestin et dans le mésentère montrent une superbe injection laiteuse. La citerne de Pequet et le canal thoracique en sont gorgés.

Si l'on injecte dans une anse intestinale, au moyen d'une canule en forme d'aiguille (canule analogue à celle de la seringue de Pravaz), quelques c.c. d'eau oxygénée, on pourra constater que ce liquide est absorbé par les veines. L'arrivée de l'eau oxygénée dans les vaisseaux sanguins est signalée par l'apparition de bulles gazeuses incolores très apparentes, se suivant à la file (oxygène provenant de la décomposition de l'eau oxygénée par l'hémoglobine du sang).

Note. L'expérience d'absorption de l'eau oxygénée par les vaisseaux sanguins, réussit encore mieux et est plus démonstrative, si l'on choisit comme champ d'opération le pavillon de l'oreille du lapin. On injecte l'eau oxygénée, au moyen de la seringue, dans l'épaisseur du tissu fibreux de l'oreille. On voit, presque immédiatement, apparaître des perles transparentes (bulles d'oxygène) dans les vaisseaux sanguins du pavillon (Expérience de Coppola).

(1) L'huile d'olive du commerce est généralement rance, c'est-à-dire acide. Pour l'obtenir neutre, on la fait bouillir avec un peu d'eau de baryte. Après refroidissement, on traite par l'éther, qui dissout la graisse. Pour avoir l'huile neutre, on laisse évaporer l'éther.

IV. — BILE.

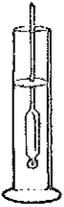


Fig 52.
Arcomètre.

73. Couleur, odeur, saveur, alcalinité, densité de la bile de bœuf et de la bile de chien. —

Couleur brune de la bile des carnivores (chien), — verte (lapin), ou brun-verdâtre (bœuf) de la bile des herbivores.

Odeur musquée de la bile de bœuf. Saveur amère. Alcalinité au papier. Densité élevée mesurée à l'aréomètre.

La bile ne contient pas d'albumine : on peut la faire bouillir, sans qu'elle fournisse de coagulum.

74. La bile contient de la mucine. — A 5 c.c. de bile, diluée avec deux volumes d'eau, ajoutez quelques gouttes d'acide acétique dilué (1 : 5) et agitez : la mucine se précipite.

A 5 c. c. de bile, ajoutez 5 ou 10 c. c. d'alcool : précipité de mucine.

75. Réaction de Gmelin, caractéristique des pigments biliaires. — Versez sur une assiette ou sur le fond d'une capsule quelques gouttes de bile. Ajoutez avec précaution un peu d'acide nitrique, de manière que les deux liquides se mélangent lentement. Il se forme, au contact de l'acide nitrique, des zones ou anneaux colorés, vert, bleu, pourpre, rose, jaune.

Refaites l'expérience dans un tube à réaction, versez-y d'abord 2 1/2 c.c. d'acide nitrique, puis 5 c.c. de bile, que vous laissez couler avec précaution à la surface de l'acide, en inclinant le tube, afin que les liquides ne se mélangent pas. Les mêmes anneaux colorés se montrent au contact des deux liquides.

76. Réaction de Pettenkofer, caractéristique des acides biliaires. — Mélangez, dans un petit creuset ou une petite capsule, quelques gouttes de bile et gros comme une tête d'épingle de sucre de cannes en poudre. Ajoutez quelques gouttes d'acide sulfurique. Si le mélange atteint spontanément la température de 70°, qu'il ne faut pas dépasser, il se produit une belle coloration pourpre. Si la coloration ne se montre pas, chauffez avec précaution à feu nu, ou mieux encore au bain-marie.

77. Préparation de l'acide glycocholique. — Versez dans un cylindre 10 c.c. d'éther, 100 c.c. de bile de bœuf et 5 c.c. d'acide chlorhydrique. Si vous n'avez pas assez de bile à votre disposition, faites le même mélange, dans les mêmes proportions (10 c.c. bile, 1 c.c. éther et 1/2 c.c. acide chlorhydrique), mais à une échelle plus restreinte, dans un tube à réaction. Agitez le mélange et bouchez. Conservez à une basse température.

Il se forme ordinairement un précipité, qui ne tarde pas à se transformer en aiguilles cristallines. Recueillez le précipité sur un petit filtre, lavez-le avec très peu d'eau froide. C'est de l'acide glycocholique; il peut servir à répéter la réaction de Pettenkofer.

78. Bile cristallisée de Platner. — Triturez dans un mortier 25 c.c. de bile de bœuf avec du noir animal (5 à 10 gr.), de manière à former une bouillie peu épaisse. Faites sécher cette bouillie dans une capsule chauffée au bain-marie, en remuant de temps en temps avec une baguette. Introduisez la masse sèche (pulvérisée au besoin), dans un petit matras, ajoutez 50 c.c. d'alcool, et bouchez. Agitez de temps en temps le mélange.

Décantez l'alcool, lavez la masse noire avec une nouvelle quantité d'alcool, filtrez le tout sur un petit filtre, recueillez le filtrat dans un petit gobelet, évaporez au bain-marie jusqu'à petit volume (3 à 5 c.c. au plus), puis versez le liquide encore chaud dans un tube de verre; laissez-le refroidir, ajoutez 15 c.c. d'éther, et bouchez soigneusement, ou mieux, scellez à la lampe. Il se forme à la surface du verre un dépôt d'aspect résineux, qui se transforme au bout de quelques jours en masses radiées, cristallines : mélange de *glycocholate* et de *taurocholate de sodium*. Conservez avec l'étiquette : *bil. cristallisée*.

79. Acide cholalique. — Faites bouillir dans une capsule, à feu nu, 50 c.c. d'eau de baryte et 5 c.c. de bile de bœuf. Il se sépare une masse résineuse d'acide cholalique. La taurine et le glyocolle restent en solution. Exécutez la réaction de Pettenkofer avec un peu de cet acide cholalique.

80. Les calculs biliaires sont formés en grande partie de cholestérine. — Choisissez quelques calculs biliaires fortement colorés⁽¹⁾, pulvérisés dans un mortier, introduisez la poudre dans un petit matras, et épuriez-la par un mélange d'alcool et d'éther. Filtrez, recueillez le liquide filtré dans un cristalliseur, et abandonnez-le à l'évaporation spontanée — en évitant le voisinage du feu, lequel pourrait enflammer les vapeurs d'éther.

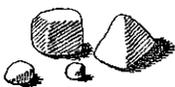


Fig. 53.

Calculs biliaires de l'homme.

change de couleur à l'air, elle passe au violet, au bleu, au vert et finit par se décolorer.

Mélangez dans un verre de montre, quelques lamelles de cholestérine, un peu d'acide sulfurique dilué et une goutte de teinture d'iode : la cholestérine se colore successivement en violet, bleu, vert, rouge, jaune et finalement en brun.

(1) Calculs biliaires de l'homme recueillis à la salle de dissection, ou mieux, calculs biliaires du bœuf provenant de l'abattoir. La difficulté de se procurer des calculs biliaires en quantité suffisante ne permet pas de faire exécuter les préparations n° 80 et 81 par tous les étudiants.

81. Les calculs biliaires contiennent une combinaison de bilirubine et de chaux. — La poudre de calculs biliaires épuisée par l'alcool et l'éther, provenant de la préparation n° 80, est lavée sur le filtre avec de l'acide chlorhydrique dilué (1 : 20), puis avec de l'eau. Laissez sécher, introduisez filtre et poudre dans un petit matras, et ajoutez un peu de chloroforme : le chloroforme dissout la bilirubine. Filtrez la solution chloroformique, recueillez-la dans une capsule, que vous abandonnez à l'évaporation spontanée : la bilirubine se dépose, sous forme de poudre brune.

82. La bilirubine devient biliverdine par oxydation ; la biliverdine devient bilirubine par réduction. — La *Bilirubine* obtenue dans l'opération n° 81, est dissoute dans de l'eau additionnée d'un dixième de son volume de soude. La solution brune, abandonnée à l'air, ne tarde pas à s'oxyder et à verdir : formation de *Biliverdine*.

Réciproquement, de la bile verte (contenant de la *Biliverdine*) renfermée dans un tube scellé, ne tarde pas à se réduire spontanément, par la putréfaction, et à devenir brune, par suite de la formation de *Bilirubine*.

CHAPITRE IV.

Urine.

I. — URINE HUMAINE NORMALE.

83. Couleur, densité, acidité de l'urine. — La densité de l'urine se mesure comme celle du sérum (n° 13), au moyen d'un aréomètre. Elle est en moyenne de 1015 à 1020.

L'urine rougit le papier bleu de tournesol (phosphate acide de sodium).

84. Putréfaction de l'urine. — Abandonnez 100 c.c. d'urine, pendant huit à quinze jours, au fond d'un cristalliseur. L'urine devient alcaline, et répand une forte odeur ammoniacale (fermentation ammoniacale de l'urée sous l'influence du *micrococcus ureæ*). En même temps, l'urine se trouble et laisse déposer des sphérules de phosphate acide d'ammoniaque et des cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien (cristaux en forme de *couvercles de cerceuil*, voir fig. 55, *b*).

Examinez au microscope une petite portion du sédiment, dilué dans une goutte d'urine (voir fig. 55).

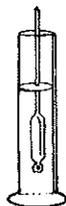


Fig. 54.

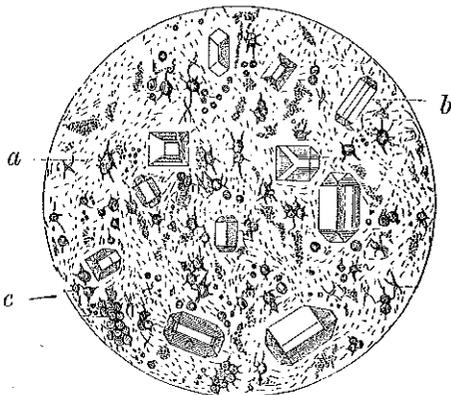


Fig. 55.

Sédiments microscopiques de la fermentation ammoniacale de l'urine.
a, urate acide d'ammoniaque; *b*, phosphate ammoniaco-magnésien; *c*, micro-organismes de fermentation.

85. Préparation de l'urée. — Evaporez dans une capsule, sur le trépied, à feu nu (sous la cage d'évaporation) 1/2 litre au moins d'urine humaine, jusqu'à très petit volume ($\frac{1}{10}$ du volume primitif). Laissez refroidir complètement (en entourant, si possible, de neige ou de glace, le gobelet qui contient le liquide), et ajoutez-y deux volumes d'acide nitrique (incolore, exempt de vapeurs rutilantes), refroidi au préalable. Le précipité d'urates, qui s'était produit à la suite de l'évaporation, se redissout; en même temps il se forme un abondant dépôt de lamelles cristallines, miroitantes, de nitrate d'urée.

Recueillez le nitrate d'urée sur un filtre, laissez égoutter complètement, étalez le filtre sur une plaque de verre, repliez-le en deux, et exprimez fortement entre plusieurs doubles de papier à filtre. Le nitrate d'urée se détache facilement, sous forme de gâteau fortement acide. Placez-le dans un mortier, et ajoutez par petites portions, du carbonate de barym en poudre; triturez avec le pilon, tant qu'il se dégage des bulles de CO_2 . Recueillez la bouillie ainsi formée, desséchez-la dans une capsule au bain-marie. Pulvériser, et traitez à différentes reprises par de petites quantités d'alcool. L'alcool dissout l'urée et la matière colorante. Filtrez; abandonnez la solution alcoolique dans un cristalliseur. L'alcool s'évapore, et l'urée se dépose sous forme d'aiguilles et de prismes cristallins, encore colorés en jaune.

Recueillez-les, et purifiez par recristallisation de l'alcool (dissoudre dans très peu d'alcool, et abandonner à évaporation spontanée).

86. Réactions de l'urée. — Les réactions de l'urée s'exécutent soit avec l'urée extraite de l'urine (n° 85), soit avec un échantillon d'urée du commerce (préparée synthétiquement).

a) Placez un cristal d'urée sur la langue: saveur fraîche et légèrement amère.

b) Dissolvez quelques cristaux d'urée dans très peu d'eau. Une partie de la solution est précipitée par l'acide nitrique (examen microscopique des cristaux de nitrate d'urée — voir fig. 56). Une autre partie est précipitée par l'acide oxalique: formation d'oxalate d'urée. La solution d'urée précipite également par le nitrate de mercure (voir n° 88).

c) Chauffez quelques cristaux d'urée à sec au fond d'un tube à réaction. L'urée fond, puis dégage des vapeurs ammoniacales (odeur, alcalinité au papier de tournesol ou de curcuma), et laisse un résidu blanchâtre de *biuret* ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$). Laissez refroidir, ajoutez quelques gouttes d'eau pour dissoudre le biuret formé. Ajoutez un peu de soude et très peu (quelques gouttes) de solution de sulfate de cuivre: coloration rose pourpre (*réaction du biuret*).

d) Une solution d'urée (ou un peu d'urine), additionnée d'un égal volume de solution d'*hypobromite de sodium*, donne un abondant dégagement de bulles gazeuses d'azote. CO_2 et H_2O restent dans le liquide.

e) Chauffez un très petit globule de mercure au fond d'un tube à

réaction, avec quelques gouttes d'acide nitrique : il se dégage des vapeurs rutilantes d'*hypoozotide*. Projetez au fond du tube une solution concentrée d'urée ou quelques cristaux d'urée : l'urée décompose les vapeurs rutilantes, et il ne se dégage plus que des gaz incolores (N et CO₂).

87. Dosage gazométrique de l'urée par l'hypobromite de sodium. — L'hypobromite de sodium en solution alcaline décompose l'urée en H₂O et CO₂, qui restent dans le liquide et en N, qui se dégage sous forme de bulles

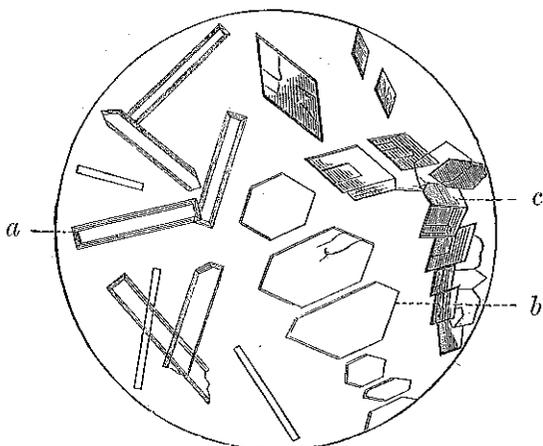


Fig. 56.

a, urée en cristaux microscopiques; b, lamelles hexagonales; c, lamelles rhombiques de nitrate d'urée.

gazeuses. On recueille l'azote dans un tube gradué, et on le mesure. Chaque centigramme d'urée fournit 3.7 c. c. d'azote à 0° et 760^{mm} P.

On a imaginé un grand nombre d'appareils pour exécuter ce dosage. Citons, parmi les plus simples, le tube d'Esbach et celui d'Yvon.

Le tube d'Yvon est un tube de verre long de 40 centimètres, portant vers son quart supérieur un robinet également en verre, et gradué de chaque côté à partir de ce robinet en centimètres cubes et dixièmes de centimètres cubes (fig. 57).

L'instrument plonge dans une cuve à mercure.

La partie inférieure étant remplie de mercure jusqu'au robinet, on verse dans la partie supérieure, au moyen d'une pipette, un (ou deux) centimètre cube d'urine.

En ouvrant le robinet avec précaution, on fait pénétrer l'urine dans la partie inférieure, et le mercure s'abaisse d'autant. On lave le tube au-dessus du robinet avec un peu de lessive de soude étendue d'eau, et l'on réunit ce liquide au premier sous le robinet. On ajoute 5 c. c. de solution d'hypobromite (renfermant 5 grammes de brome et 30 grammes de lessive de soude pour 125 grammes d'eau distillée),



Fig. 57.

Tube d'Yvon pour le dosage volumétrique de l'urée.

que l'on fait passer également sous le robinet ; on referme celui-ci.

L'urée est décomposée en H_2O , en CO_2 qui est absorbé par la soude, et en N qui se rassemble dans le haut du tube sous le robinet. Pour faciliter le mélange des liquides et le dégagement de N , on retire l'instrument du mercure en bouchant avec le doigt l'extrémité inférieure du tube, et l'on agite. On remet sur la cuve à mercure ; puis, quand tout le gaz est rassemblé dans le haut de la chambre à gaz et que le liquide s'est éclairci, on porte l'instrument dans un cylindre plein d'eau.

La solution d'hypobromite plus dense s'écoule : on égalise les niveaux, et l'on fait la lecture.

Pour éviter les corrections de température, de pression, etc., on répète immédiatement le même essai avec 1 ou 2 c. c. d'une solution titrée d'urée à 2 %, auxquels on ajoute un volume suffisant de la solution d'hypobromite. On obtient dans ce dosage un chiffre d'azote voisin de 3.7 c. c. par centigramme d'urée. C'est cette valeur trouvée pour la solution à 2 % qui doit servir à effectuer le calcul du premier dosage.

88. Dosage de l'urée par le nitrate de mercure (procédé de Liebig). — Commencez par éliminer sous forme de sels barytiques insolubles, les phosphates et sulfates de l'urine. À cet effet, mélangez deux volumes d'urine (tube à réaction rempli deux fois d'urine), avec un volume de solution barytique ⁽¹⁾ (tube à réaction rempli une fois de solution barytique). Filtrez. Prenez 15 c. c. du liquide filtré — représentant 10 c. c. de l'urine avant sa dilution — et introduisez-les dans un petit gobelet, placé sous la burette.

La burette a été remplie de la solution titrée de nitrate de mercure ⁽²⁾ : on laisse couler cette solution par petites portions dans le gobelet contenant l'urine, jusqu'à ce que toute l'urée soit précipitée par le nitrate de mercure.

L'opération est terminée lorsqu'une goutte du mélange, puisée dans le gobelet au moyen d'une baguette de verre, et portée dans un verre de montre contenant du carbonate de sodium en solution ⁽³⁾, y produit un précipité qui jaunit rapidement (formation d'oxyde de mercure). Tant qu'il reste de l'urée en solution, le précipité formé dans le carbonate de sodium reste blanc.

Le nombre de c. c. de liqueur mercurique nécessaires pour atteindre la réaction finale, correspond au nombre de centigrammes d'urée contenus dans les 10 c. c. d'urine.

Le résultat n'est exact que si le mélange d'urine et de nitrate de mercure contenu dans le gobelet est neutralisé à mesure de sa formation, par une addition de carbonate de sodium. Dans une première opération, on commence par atteindre directement la réaction finale (gouttelette formant un précipité jaunissant dans le carbonate de sodium) ; on neutralise dans le gobelet au

⁽¹⁾ La solution barytique s'obtient en mélangeant deux volumes d'une solution saturée (à froid) de baryte caustique et un volume d'une solution saturée (à froid) de nitrate de baryum.

⁽²⁾ La solution de nitrate de mercure peut se préparer de la façon suivante (Dragendorff) : 96 gr. 855 de chlorure mercurique pur sont dissous dans l'eau, et précipités par un excès de soude ou de potasse. Le précipité est lavé (par décantation d'abord, puis sur le filtre), et dissous dans la quantité voulue d'acide nitrique dilué. Le liquide est étendu d'eau, de manière à faire un litre. On vérifie le titre de cette solution au moyen d'une solution d'urée à 2 %.

⁽³⁾ Solution contenant par litre. 53 gr. de carbonate de sodium pur et calciné au préalable.

moyen d'une quantité mesurée de solution de carbonate de sodium, puis on essaie de nouveau la réaction finale, qui ne se montre plus qu'après addition nouvelle de 1, 2, 3... c. c. de nitrate de mercure. Ce premier dosage n'est qu'un essai préliminaire. Dans une seconde opération, exécutée également avec 15 c. c. d'urine diluée, on verse alternativement ou simultanément les deux liquides (nitrate de mercure, carbonate de sodium) dans l'urine barytique jusqu'à production de la réaction finale, en ayant soin de la maintenir toujours à peu près neutre.

Les chiffres fournis par ce second dosage sont plus exacts que ceux du premier; ils ont cependant besoin d'être corrigés.

En effet, les premières portions de nitrate d'urée sont décomposées par les chlorures de l'urine, en chlorure mercurique et nitrate alcalin, d'où une erreur que l'on peut évaluer à 1.5 à 2.5 c. c. environ de solution mercurique.

89. Préparation de l'acide urique. — Mélangez dans un gobelet 25 c. c. d'acide chlorhydrique fumant et $\frac{1}{2}$ litre d'urine. Laissez reposer jusqu'au lendemain. Recueillez les cristaux d'acide urique qui se sont déposés à la surface du liquide et contre les parois du vase; à cet effet, agitez le liquide : les cristaux tombent au fond. Décantez le liquide surnageant, lavez les cristaux deux fois à l'eau, et examinez-les au microscope à un faible grossissement.

90. Réactions de l'acide urique. — Dissolvez une partie des cristaux dans un peu de soude, ajoutez une goutte de solution de Cu SO^4 et chauffez : il se forme un précipité blanc d'urate cuivreux, ou un précipité rouge d'oxyde cuivreux.

Réaction de la murexide. — Chauffez à feu nu dans une petite capsule, ou sur un couvercle de creuset tenu à la main, un peu d'acide urique humecté de deux à trois gouttes d'acide nitrique : il se forme un résidu ou un enduit jaunâtre, puis rougeâtre. Laissez refroidir, et ajoutez avec une baguette une goutte d'ammoniaque diluée : magnifique coloration pourpre de *murexide* ou *purpurate d'ammoniaque*.

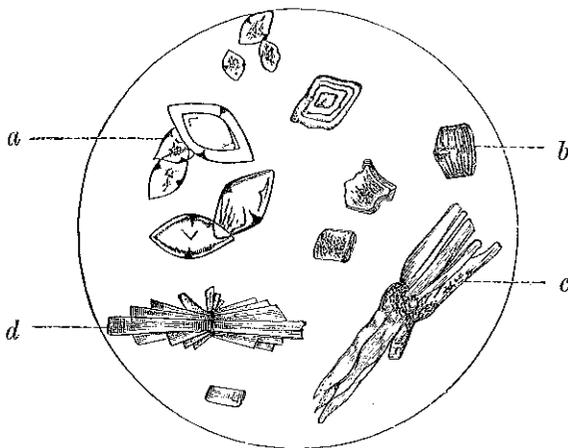


Fig. 58.

Cristaux d'acide urique.

a, rhomboédres en forme de pierre à aiguiser; b, groupe de cristaux en forme de tonnelet; c, cristaux allongés irrégulièrement; d, rhomboédres en groupement radité.

Répétez l'essai de la murexide en remplaçant l'ammoniaque par la soude : il se forme une coloration violette, qui disparaît si vous chauffez.

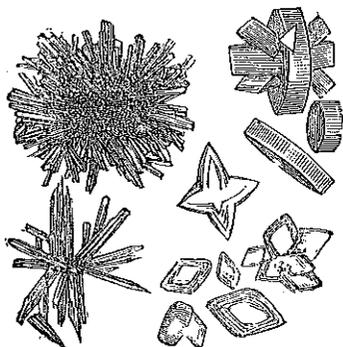


Fig. 59.

Cristaux microscopiques d'acide urique.

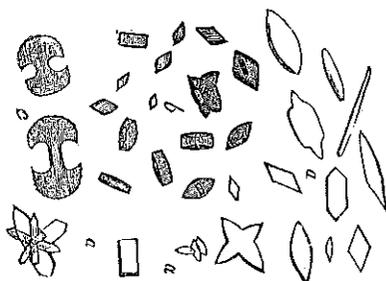


Fig. 60.

Cristaux microscopiques d'acide urique.

91. Indican, indigo. — Faites dans une capsule un mélange à volumes égaux d'urine humaine (ou mieux, d'urine de cheval — voir n° 98) et d'acide chlorhydrique. Ajoutez avec précaution et goutte à goutte, une solution d'hypochlorite de sodium; agitez le mélange avec une baguette de verre après l'addition de chaque goutte d'hypochlorite : le liquide se colore en bleu par la décomposition de l'*indoxylsulfate de potassium* (*Indican*) et la formation de sulfate de potassium et de bleu d'indigo. Continuez à verser de l'hypochlorite : l'indigo est détruit à son tour et le liquide se décolore.

Chauffez dans un tube fermé un très petit fragment d'indigo du commerce. Observez la superbe vapeur violette de l'indigo, et le dépôt cristallin bleu foncé qui se fait sur les parties froides du tube.

Dissolvez un très petit fragment d'indigo dans le chloroforme : solution violette.

92. Sels solubles de l'urine. — On peut, à la rigueur, rechercher les éléments minéraux de l'urine, sans avoir au préalable détruit par la chaleur, les substances organiques que ce liquide renferme (évaporation de l'urine, calcination du résidu, épuisement par l'eau chaude du charbon formé = extrait aqueux, alcalin, contenant les sels solubles de l'urine).

Recherchez directement dans l'urine :

Les *sulfates*, par le chlorure barytique : précipité insoluble dans l'acide chlorhydrique.

Les *phosphates*, par l'acide molybdique (chauffer) : précipité jaune se formant peu à peu; — ou par l'ammoniaque : précipité de phosphates alcalino-terreux.

Les *chlorures*, par le nitrate d'argent : précipité insoluble dans l'acide nitrique, soluble dans l'ammoniaque.

Le *calcium*, par l'oxalate ammonique : précipité.

Le *potassium* (dans l'urine concentrée par évaporation et acidulée), par le chlorure de platine en présence de l'alcool : précipité jaune, cristallin.

Le *sodium*, par la coloration jaune que le résidu de l'évaporation de l'urine, ramassé sur un fil de platine, communique à la flamme du brûleur de Bunsen.

93. Titrage approximatif des chlorures de l'urine par le nitrate d'argent. — Mesurez à la pipette 10 c. c. d'urine; versez-les dans un gobelet, et ajoutez deux gouttes de chromate neutre de potassium.

Remplissez la burette avec la solution titrée de nitrate d'argent (contenant 29^{gr}.063 de nitrate d'argent pur et fondu, dissous dans q. s. d'eau distillée, pour faire un litre de liquide), et laissez couler la solution dans le gobelet contenant l'urine. Agitez avec une baguette : il se forme un précipité blanc de chlorure d'argent tant qu'il reste du chlore en solution. Dès que tout le chlore est précipité, le nitrate d'argent se porte sur le chromate de potassium, avec lequel il donne un précipité rouge de chromate d'argent. L'apparition du précipité rouge indique donc la fin du titrage.

Faites à la burette la lecture du nombre de centimètres cubes employés. Chaque centimètre cube de la solution de nitrate d'argent représente un centigramme de chlorure de sodium.

II. — URINE DE CHEVAL.

94. — Préparation de l'acide hippurique. — Évaporez dans une capsule (sous la cage d'évaporation) 1/4 (ou 1/2) litre d'urine fraîche de cheval, de manière à réduire le liquide au dixième du volume primitif. Laissez refroidir complètement; et ajoutez 20 c. c. (ou 40 c. c.) d'acide chlorhydrique; mélangez les deux liquides, et attendez jusqu'au lendemain le refroidissement complet : dépôt d'acide hippurique cristallisé.

Filtrez, de manière à recueillir sur le filtre les cristaux d'acide hippurique; le liquide filtré servira à la préparation du phénol et du crésol (n° 95). Lavez l'acide hippurique sur le filtre avec un peu d'eau froide, et faites recristalliser en dissolvant les cristaux dans un peu d'eau bouillante. L'acide hippurique cristallise par le refroidissement.

95. — Réactions de l'acide hippurique. — Les cristaux obtenus au n° 94 sont essuyés au moyen d'un peu de papier à filtrer et servent aux essais suivants :

a) Chauffez modérément dans un tube à réaction, un peu d'acide hippurique : l'acide fond et se transforme en un liquide huileux, qui se prend en cristaux par le refroidissement. Chauffez plus fort : la substance fond et se colore en rouge, monte le long des parois du tube, donne un sublimé d'acide benzoïque, et développe une odeur assez agréable, rappelant d'abord celle du foin, puis celle de l'acide cyanhydrique.

b) Chauffez modérément dans un tube à réaction, gros comme un pois d'acide hippurique avec quelques gouttes d'acide nitrique : il se forme du *nitrobenzol* qui présente l'odeur d'amandes amères. (Réaction de *Lücke*.)

c) Dissolvez un peu d'acide hippurique dans l'eau, ajoutez quelques gouttes d'une solution neutre de chlorure ferrique : précipité brun d'hippurate ferrique.

96. Acides aromatiques. — L'urine de cheval, acidulée par 5 % d'acide sulfurique (ou le liquide filtré provenant de la préparation de l'acide hippurique n° 94 et dilué avec deux volumes d'eau) est distillée dans un matras, sur le trépied en fer garni d'une toile métallique (fig. 61). Arrêtez la distillation quand 1/3 environ du liquide a passé dans le récipient.

Les produits de la distillation sont condensés au moyen d'un réfrigérant de Liebig, et recueillis dans un récipient constitué par un second matras (voir fig. 61). Le tube inférieur du réfrigérant

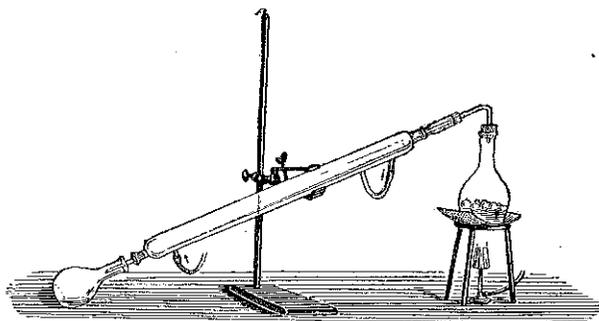


Fig. 61.

Distillation de l'urine de cheval additionnée d'acide sulfurique.

est relié par un tube en caoutchouc à la distribution d'eau. Le tube supérieur est relié par un caoutchouc à la coquille servant de décharge.

L'acide sulfurique décompose le *phénylsulfate* et le *crésylsulfate de potassium*, forme du sulfate acide de potassium, et met le *Phénol* ($C_6H_5.OH$) et le *Crésol* ($CH_3.C_6H_4.OH$) en liberté. Ces deux corps sont volatils, et passent avec la vapeur d'eau dans le récipient.

97. Phénol et Crésol. — Le liquide recueilli par distillation au n° 96, a une forte odeur de phénol. Exécutez avec ce liquide les réactions suivantes, qui sont communes au phénol et au crésol :

a) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de liquide avec un égal volume d'eau de brome : il se forme bientôt un précipité cristallin blanc-jaunâtre (mélange de tribromophénol, $C_6 H_2 Br_3 OH$ et de bromure de tribromocrésol, $C_7 H_4 Br_3 OBr$).

b) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de liquide avec un égal volume de liqueur de Millon : coloration rouge. Chauffez si la coloration ne se montrait pas déjà à froid.

c) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de liquide avec quelques gouttes de perchlorure de fer neutre : coloration d'encre.

98. Indigo. — L'urine de cheval est mélangée avec un égal volume d'acide chlorhydrique, puis additionnée goutte à goutte d'hypochlorite de sodium, jusqu'à formation d'un dépôt bleuâtre d'indigo. Filtrez sur un entonnoir (sans filtre) garni d'un petit tampon de verre filé. Le verre filé fait office de filtre, et retient les particules d'indigo. Lavez à l'eau chaude, laissez sécher, détachez le tampon, et divisez-le en deux parties. Chauffez la moitié au fond d'un tube à réaction : vapeurs violettes et sublimé d'indigo. Traitez l'autre moitié au fond d'un tube à réaction par quelques centimètres cubes de chloroforme : solution violette.

III. — CONSTITUANTS ANORMAUX DE L'URINE HUMAINE.

99. Dosage clinique de l'albumine d'après Esbach. — Versez l'urine albumineuse dans le tube d'Esbach jusqu'au trait U ; ajoutez le réactif micro-citrique ⁽¹⁾, jusqu'au trait R. Bouchez, retournez le tube dix fois de suite sans secouer.

Laissez reposer le tube verticalement jusqu'au lendemain. Les grumeaux d'albumine se tassent au fond du tube : lisez le chiffre correspondant à la hauteur du précipité. Ce chiffre repré-

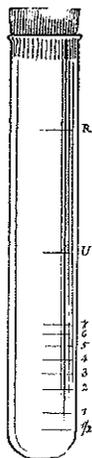


Fig. 62.
Tube d'Esbach, pour le dosage clinique de l'albumine des urines.

⁽¹⁾ Le réactif micro-citrique contient 40 gr. d'acide picrique, 20 gr. d'acide citrique et de l'eau q. s. pour faire un litre.

sente le nombre de grammes d'albumine contenus dans un litre d'urine.

Si le coagulum dépasse le trait 4, diluez l'urine avec un ou deux volumes d'eau, et recommencez l'essai, comme précédemment. Le résultat de l'analyse correspond à la quantité d'albumine contenue dans l'urine diluée : il doit, par conséquent, être multiplié par 2 ou par 3, suivant le cas, pour être rapporté à l'urine non diluée.

Pour la recherche de l'albumine, des pigments biliaires et du sucre, voir nos 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 58, 59 et 75.

Pour le dosage du sucre, voir nos 60, 61, 62.

CHAPITRE V.

Nutrition — Aliments — Tissus.

I. — GLYCOGÈNE.

100. Préparation du glycogène.— Un morceau de foie (25 gr. au moins) provenant d'un animal (chien ou lapin) bien nourri et que l'on vient de tuer, est coupé en petits morceaux. Lavez les morceaux à l'eau froide, pour les débarrasser d'une partie du sang qu'ils contiennent, puis projetez-les un à un dans une capsule contenant de l'eau en pleine ébullition. Faites bouillir pendant deux minutes, en remuant constamment au moyen de la baguette.

Reprenez les morceaux de foie, et pilez-les dans un mortier avec du sable (sable lavé au préalable). Remplacez la bouillie de substance hépatique et de sable, avec le liquide, dans la capsule, et faites bouillir pendant quelques minutes en remuant. Laissez reposer, puis décantez le liquide clair surnageant, que vous filtrez. Vous obtenez une solution d'autant plus opalescente qu'elle contient plus de glycogène.

La bouillie hépatique est soumise à l'ébullition une seconde fois avec une nouvelle quantité d'eau : le liquide est décanté, filtré et réuni à la première décoction.

La solution de glycogène ainsi obtenue est acidulée par quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Versez-y alternativement quelques gouttes d'iodhydrargyrate de potassium (iodure mercurique dissous dans une solution d'iodure de potassium) et d'acide chlorhydrique, jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité (précipité d'albuminoïdes). Filtrez, et précipitez le glycogène en mélangeant le liquide filtré avec un égal volume d'alcool.

Attendez le dépôt du précipité de glycogène, décantez le liquide surnageant, et recueillez le glycogène sur un petit filtre. Dissolvez

une partie du glycogène dans l'eau, pour essayer les réactions indiquées au n° 101.

Lavez sur le filtre, le reste du glycogène à l'alcool, puis à l'éther et finalement à l'alcool absolu. Placez le petit filtre avec le glycogène sur un verre de montre, et laissez sécher dans l'exsiccateur. Recueillez la poudre blanche dans un tube avec l'étiquette : *glycogène*.

101. Réactions du glycogène. — La solution de glycogène obtenue au n° 100, peut servir à faire les essais suivants :

a) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de solution de glycogène avec un égal volume de soude, et ajoutez quelques gouttes de sulfate cuivrique : liqueur d'un beau bleu qui ne se réduit pas par l'ébullition.

b) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de solution de glycogène avec un peu de salive. Le liquide perd son opalescence (transformation du glycogène) et présente les réactions du sucre (voir nos 57 et 58).

c) Mélangez dans un tube à réaction 2 $\frac{1}{2}$ c. c. de solution de glycogène avec un égal volume d'eau iodée : coloration brun acajou.

d) Faites bouillir le reste de la solution opalescente de glycogène, introduisez-la dans un tube de verre stérilisé par la chaleur, scellez. Pour être sûr de la stérilisation du liquide, chauffez encore le tube scellé à l'eau bouillante. Essayez-le et étiquetez-le : solution de glycogène.

Si l'opération a été faite correctement, la solution de glycogène ne s'altère pas et conserve son aspect laiteux caractéristique.

102. Après la mort, le glycogène du foie se transforme en sucre. — Essayez de préparer du glycogène avec un morceau de foie conservé depuis plusieurs jours à la température ordinaire — ou mieux à l'étuve à $+ 40^{\circ}$. La décoction n'est pas opalescente, ou se colore à peine par l'iode et présente les réactions du sucre. Exécutez quelques-unes de ces réactions.

Le foie frais, tel qu'on l'emploie à la préparation du glycogène, n'a pas le goût sucré du foie de boucherie. Cela provient de ce que le foie frais ne contient presque pas de sucre, mais beaucoup de glycogène.

II. LAIT.

103. Analyse du lait de vache. Albumine et sucre. — Mesurez à la pipette 20 c. c. de lait de vache, que vous versez dans un cylindre gradué; ajoutez 380 c. c d'eau (jusqu'au trait 400 du cylindre). Versez le mélange dans un gobelet, et ajoutez goutte à

goutte de l'acide acétique dilué, jusqu'à la production d'un précipité floconneux, puis faites passer pendant un quart d'heure un courant de CO_2 (*) à travers le liquide.

Laissez déposer le précipité grumelleux, qui comprend la caséine et le beurre. Recueillez-le sur un petit filtre, et séparez le beurre de la caséine, comme il est dit au n° suivant.

Le liquide filtré contient l'albumine et le sucre. Soumettez-le à l'ébullition dans une capsule. L'albumine se coagule en petits grumeaux. Filtrez : le liquide filtré contient le sucre de lait, que l'on peut démontrer et doser par la liqueur de Fehling.

104. Caséine et beurre. — Le filtre contenant les grumeaux de caséine et de beurre, est introduit dans un petit matras, et additionné d'un peu d'alcool et de 30 c. c. d'éther (qui dissout le beurre) : agitez à plusieurs reprises, recueillez l'éther (en filtrant), et laissez évaporer spontanément dans un gobelet ou un cristalliseur : il reste un enduit gras de beurre. Les grumeaux de caséine, dégraissés par plusieurs lavages à l'éther, sont desséchés et conservés dans un tube avec l'étiquette : *caséine du lait de vache*.

On peut également obtenir la caséine et le beurre, en saturant un volume connu de lait, au moyen de sulfate de magnésium en poudre. La caséine se précipite, en entraînant le beurre. On recueille le précipité sur un petit filtre, et on lave sur le filtre au moyen d'une solution saturée de MgSO_4 .

(*) Le courant de CO_2 est fourni par un appareil *ad hoc*, dans lequel du carbonate de calcium (marbre blanc) est décomposé par l'acide chlorhydrique. Le gaz CO_2 barbote à travers un flacon laveur contenant une solution de carbonate de sodium.

FIN.

TABLE DES MATIÈRES.

Avant-propos	Page 5
Outillage de chaque place du laboratoire de chimie physiologique	7
Essai de l'eau de la ville et de l'eau distillée	10

CHAPITRE I. — LE SANG ET LES MATIÈRES ALBUMINOÏDES.

I. — *Matières albuminoïdes.*

1 Les matières albuminoïdes contiennent : C, H, O, N, S.	11
2-10 Réactions générales des matières albuminoïdes	11-15
11 L'albumine ne diffuse pas	15
12 Les matières albuminoïdes sont lévogyres.	15

II. — *Sérum de Bœuf.*

13 Couleur, odeur, saveur, alcalinité, densité du sérum.	16
14 Paraglobuline	16
17 Albumine	17
18 Sels et sucre du sérum	18
19 Ferment de la fibrine	18

III. — *Plasma sanguin et coagulation du sang.*

20 Expériences sur la coagulation du sang.	18
21 Dosage de la fibrine	19
22 Coagulation du plasma sanguin au $Mg SO_4$	20
23 Préparation du fibrinogène.	21
24 Détermination de la température de coagulation du fibrinogène.	21

IV. — *Globules rouges.*

25 Lavage des globules rouges	22
26 Dissolution des globules rouges dans l'eau	22
27 Spectre de l'oxyhémoglobine	22
28 Spectre de l'hémoglobine réduite.	23
29 Spectre de l'hémoglobine oxycarbonée	23
30 Comparaison de deux spectres superposés	23

31 Carmin et picrocarmin	Page 24
32 L'oxyhémoglobine se réduit par la conservation en vase clos.	24
33 Cristaux d'oxyhémoglobine	24
34 L'hémoglobine contient du fer	25
35 L'hémoglobine se transforme à l'air en méthémoglobine	26
36 L'hémoglobine transporte l'ozone de l'essence de térébenthine à la résine de gayac.	26
37 Dosage colorimétrique de l'hémoglobine	26
38 Hématine	27
39 Hémochromogène.	27
40 Hémine ou chlorhydrate d'hématine.	28
41 Détermination de la quantité totale de sang	28

CHAPITRE II. — GAZ DU SANG ET RESPIRATION.

I. — Gaz du sang.

42 Action de O ₂ et de CO ₂ sur les globules rouges	29
43 Extraction des gaz du sang par la pompe à mercure.	29
44 Analyse sommaire des gaz du sang artériel	30
45 Les globules rouges, combinant leur action avec celle du vide et de la chaleur, décomposent le carbonate de sodium	31

II. — Respiration.

46 L'air de l'inspiration contient fort peu (3 à 4 dix millièmes) de CO ₂	31
47 L'air de l'expiration contient beaucoup (4 à 5 %) de CO ₂	32
48 L'air de l'inspiration contient 21 % d'oxygène. L'air de l'expiration en contient 17 %	33
49 Un cobaye ou un pigeon (animal de petite taille) produit beaucoup plus de CO ₂ qu'un homme (par unité de poids).	33
50 Un lapin consomme moins d'oxygène à la température ordinaire du laboratoire, que s'il est refroidi par une aspersion d'eau glacée	34
51 L'homme consomme moins d'oxygène (250 à 300 c.c.) par kilogramme-heure que le lapin et les petits mammifères.	35
52 Un animal à sang froid produit plus de CO ₂ à la température ordinaire qu'à 0°	36
53 Le quotient respiratoire $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ est inférieur à l'unité	36
54 L'oxygène pur, comprimé à plus de 3 1/2 atmosphères de pression, provoque des convulsions et la mort	37
55 La respiration d'un mélange gazeux privé d'oxygène provoque les symptômes de l'asphyxie	38
56 Les symptômes de l'empoisonnement par CO ₂ sont différents de ceux de l'asphyxie.	38

CHAPITRE III. — DIGESTION.

I. — *Salive.*

57 La salive digère l'amidon et le glycogène	Page 39
58 Réactions de la glycose.	40
59 Fermentation alcoolique de la glycose	40
60 Dosage de la glycose par fermentation.	41
61 " " par le polarimètre	41
62 " " par la liqueur de Fehling	41

II. — *Suc gastrique.*

63 Fistule gastrique	42
64 Le suc gastrique naturel contient un acide minéral	42
65 La dissolution de la fibrine dans le suc gastrique exige la présence d'un ferment (pepsine) et d'un acide (H Cl).	43
66 La pepsine transforme la fibrine d'abord en syntonine, puis en propeptone et en peptone	44
67 La propeptone injectée dans les veines chez le chien, suspend la coagulation du sang et provoque une baisse considérable de la pression sanguine	44
68 Le suc gastrique contient un ferment qui précipite la caséine.	45

III. — *Suc pancréatique.*

69 Le suc pancréatique artificiel contient un ferment diastatique qui digère l'amidon et le glycogène	45
70 Le suc pancréatique artificiel peptonise la fibrine et l'albumine en solution alcaline ou neutre	45
71 Le suc pancréatique artificiel et le tissu du pancréas saponifient les graisses	46
72 Absorption intestinale de la graisse.	46

IV. — *Bile.*

73 Couleur, odeur, saveur, alcalinité, densité de la bile de bœuf et de la bile de chien.	47
74 La bile contient de la mucine	47
75 Réaction de Gmelin, caractéristique des pigments biliaires	47
76 Réaction de Pettenkofer, caractéristique des acides biliaires	47
77 Préparation de l'acide glycocholique	47
78 Bile cristallisée de Platner.	48
79 Acide cholalique	48
80 Les calculs biliaires sont formés en grande partie de cholestérine	48
81 Les calculs biliaires contiennent une combinaison de bilirubine et de chaux	49
82 La bilirubine devient biliverdine par oxydation ; la biliverdine devient bilirubine par réduction	49

CHAPITRE IV. — URINE.

I. — *Urine humaine normale.*

83 Couleur, densité, acidité de l'urine	Page 49
84 Putréfaction de l'urine	49
85 Préparation de l'urée	50
86 Réactions de l'urée	50
87 Dosage gazométrique de l'urée par l'hypobromite de sodium.	51
88 Dosage de l'urée par le nitrate de mercure (procédé de Liebig)	52
89 Préparation de l'acide urique	53
90 Réactions de l'acide urique.	53
91 Indigo, indican.	54
92 Sels de l'urine	54
93 Titrage approximatif des chlorures de l'urine par le nitrate d'argent.	55

II. — *Urine de cheval.*

94 Préparation de l'acide hippurique.	55
95 Réactions de l'acide hippurique	55
96 Acides aromatiques	56
97 Phénol et crésol	57
98 Indigo	57

III. — *Constituants anormaux de l'urine humaine.*

99 Dosage clinique de l'albumine d'après Esbach	57
---	----

CHAPITRE V. — NUTRITION. ALIMENTS. TISSUS.

I. — *Glycogène.*

100 Préparation du glycogène	58
101 Réactions du glycogène.	59
102 Après la mort, le glycogène du foie se transforme en sucre	59

II. — *Lait.*

103 Analyse du lait de vache : albumine et sucre.	59
104 Caséine et beurre	60

ERRATUM.

P. 41, 3^{me} ligne de la note. — Au lieu de : *tartrate cupro-potassique*,
lisez : *tartrate de sodium et de potassium.*