

## **Spectroscopie biologique / par A. Hénocque.**

### **Contributors**

Henocque, Albert William Léon, 1840-1902.  
Griffiths, L. M.  
Bristol Medico-Chirurgical Society. Library  
University of Bristol. Library

### **Publication/Creation**

Paris : Masson et Cie ; Gauthier-Villars et fils, [1898?]

### **Persistent URL**

<https://wellcomecollection.org/works/w78rqy56>

### **Provider**

Special Collections of the University of Bristol Library

### **License and attribution**

This material has been provided by This material has been provided by University of Bristol Library. The original may be consulted at University of Bristol Library. where the originals may be consulted.

This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.



Wellcome Collection  
183 Euston Road  
London NW1 2BE UK  
T +44 (0)20 7611 8722  
E [library@wellcomecollection.org](mailto:library@wellcomecollection.org)  
<https://wellcomecollection.org>

ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE

DES

AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE

SOUS LA DIRECTION DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT

*Ce volume est une publication de l'Encyclopédie  
scientifique des Aide-Mémoire ; L. Isler, Secrétaire  
général, 20, boulevard de Courcelles, Paris.*

N° 212 B

ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE DES AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT.

---

SPECTROSCOPIE BIOLOGIQUE

—

# SPECTROSCOPIE

DE L'URINE

ET DES PIGMENTS

PAR

A. HÉNOCQUE

Directeur-adjoint du Laboratoire de Physique Biologique  
du Collège de France

---

PARIS

MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS,

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

Boulevard Saint-Germain, 120

GAUTHIER-VILLARS ET FILS,

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

Quai des Grands-Augustins, 55

(Tous droits réservés)



*OUVRAGES DE L'AUTEUR PARUS  
DANS LA COLLECTION DE L'ENCYCLOPÉDIE*

---

- I. Spectroscopie du sang.**
- II. Spectroscopie des organes, des tissus et des humeurs.**
- III. Spectroscopie de l'urine et des pigments.**

## INTRODUCTION

---

Ce troisième aide-mémoire termine mon exposé général de la spectroscopie biologique en complétant la spectroscopie des humeurs, des produits médiateurs et des pigments des animaux.

Deux chapitres traitent des pigments de l'urine : les urobilines, normales ou pathologiques, l'urospectrine et l'indican, l'urohématoporphyrine, les divers chromogènes de l'urine ; et de la spectroscopie de l'urine méthodiquement pratiquée pour faire reconnaître les pigments accidentels.

La stercobiline est le produit médiateur le plus important et le plus particulièrement étudié.

Le IV<sup>e</sup> chapitre consacré aux pigments en général, montre que les résultats complexes d'analyses des pigments ayant des origines fort diverses, peuvent maintenant être groupés en des divisions naturelles, et que cette classification, provisoire en certains points, présente des carac-

tères naturels, déterminés par l'analyse spectros-copique. J'ai cru nécessaire de compléter les notions techniques distribuées çà et là dans les deux premiers volumes par une série de *documents techniques* sur l'éclairage dans les analyses spectroscopiques, sur les appareils pour l'examen des humeurs avec une épaisseur variable. J'ai, sous le titre de microspectroscopie, décrit des procédés qui permettent de comparer, de contrôler et de compléter les observations par l'emploi simultané du microscope et du spectroscope au moyen des dispositifs les plus simples.

L'hématoscope que j'ai inventé présente des applications fort intéressantes pour l'examen chromométrique, ou mieux, diaphanométrique du sang ; il m'a paru nécessaire d'exposer ce procédé qui utilise mes cuves hématoscopiques, et constitue, dans la pratique de l'hématospectroscopie, un moyen de contrôle.

L'hématoscope peut servir à l'étude diaphanoscopique du lait, et la simplicité de ce procédé de lactoscopie ou d'analyse du lait mérite qu'il soit vulgarisé parmi les médecins, c'est pourquoi je l'ai décrit en y ajoutant les résultats qui en démontrent l'utilité pratique.

Je n'ai point voulu traiter de la spectrophoto-



métrie, parce que les méthodes qu'elle comporte nécessitent des appareils compliqués et ces méthodes ressortissent des laboratoires spéciaux. Les procédés d'examen spectroscopique direct que j'ai exposés, suffiront aux premières études de spectroscopie, et je ne crains pas d'ajouter que le spectroscope à vision directe avec les procédés d'analyse qu'il comporte est le véritable instrument pratique en spectroscopie biologique. Manié méthodiquement et avec persévérance il devient rapidement un instrument d'analyse précis et d'une sensibilité qui peut même être comparée à celle de la plupart des spectrophotomètres.

J'ai néanmoins donné la description du spectrophotomètre différentiel de d'Arsonval, parce que la simplicité de sa construction, son utilisation comme photomètre et comme spectrophotomètre, en font l'appareil de laboratoire le plus simple et le plus pratique parmi les instruments similaires.

La bibliographie occupe une large place dans ce volume, mais elle a été faite à un point de vue méthodique, qui, je l'espère, sera apprécié par ceux qui voudront poursuivre les études spectroscopiques, elle comprend d'ailleurs tous les travaux cités dans les trois aide-mémoire de

spectroscopie biologique, avec des indications complémentaires.

Je crois avoir atteint le but que je me suis proposé, de démontrer que la spectroscopie biologique constitue l'une des parties les plus importantes de la physique biologique par ses méthodes, par l'étendue des objets qu'elle étudie, et ses applications à la physiologie générale, la zoologie et la médecine, et, de plus, que la technique de la spectroscopie peut être restreinte à des procédés très simples. C'est ainsi que, pour l'étude du sang, l'examen spectroscopique avec mes procédés apporte au médecin des données précises, faciles à multiplier et dont les résultats offrent une importance indéniable, pour la thérapeutique, la pathologie générale et la médecine légale.

Ces trois volumes réunis constituent une sorte de manuel de spectroscopie biologique qui n'a pas d'analogue, et dans lequel j'ai pris à tâche de n'indiquer que les notions les plus certaines et dont j'ai pu, pour le plus grand nombre, faire le contrôle.

En rapprochant dans la plupart de ces chapitres les propriétés chimiques et les notions de l'ordre de la physiologie générale ou même spéciale à certains organes, qui complètent les re-



cherches de l'analyse spectroscopique, j'ai voulu démontrer par des faits et des applications directes l'utilité et la nécessité de rattacher tous ces modes d'analyse au faisceau des sciences biologiques et je crois pouvoir établir, en d'autres termes, les conclusions suivantes :

La spectroscopie biologique doit être enseignée aux débuts des études médicales ou des sciences naturelles, en même temps que la microscopie, comme un moyen physique d'analyse qui élargit le champ de nos sensations lumineuses, puisque tout ce qui est coloré est du domaine de la spectroscopie et présente des phénomènes d'absorption dans le spectre visible et même dans les extrémités du spectre inappréciables à notre vue. L'analyse spectroscopique donne des connaissances spéciales, applicables à la physiologie et à la pathologie, elle est pour le médecin un moyen de vérification pratique de l'action des médicaments sur le sang et sur l'activité des échanges dans l'organisme, elle est aussi un procédé de contrôle et par conséquent un guide précieux pour les médications.

Plus tard, enfin, à l'âge où notre esprit fait retour sur « le chemin parcouru dans notre lutte constante pour la conservation de la vie, ce but essentiellement humanitaire de la méde-

cine », alors que nous aimons à méditer sur les grandes lois générales, la spectroscopie nous attire vers l'étude synthétique et philosophique des problèmes les plus élevés de la science de la Vie, renouvelant ainsi les ardentes aspirations de notre jeunesse.

En terminant ce livre, je dois remercier M. le Dr Tripet de la constante assistance qu'il m'a donnée dans mes démonstrations et mes travaux de laboratoire, et M. le Dr Marcel Labbé pour ses dessins spectroscopiques qu'il a exécutés sous ma direction avec la plus grande exactitude, dans ces trois volumes.

---



## CHAPITRE PREMIER

---

### SPECTROSCOPIE DE L'URINE. UROBILINES

L'urine présente à l'état normal une coloration jaune ambrée ou jaune citron plus ou moins foncée, passant au rouge jaune, variable suivant les diverses heures de l'émission, et dans des conditions physiologiques déterminées ; mais sous l'influence des états pathologiques ou de l'absorption de certains médicaments, dans les empoisonnements, l'urine offre les colorations les plus variées, c'est pourquoi Vogel, dans son échelle des couleurs de l'urine, a divisé les nuances de coloration de l'urine en trois groupes. L'urine jaune à laquelle appartiennent les nuances jaune pâle, jaune clair, jaune ; l'urine rouge avec les nuances jaune rouge, rouge jaune et rouge ; enfin l'urine brune avec les nuances brun rouge, rouge brun, brun

noir; or, cette échelle est loin de comprendre toutes les teintes telles que la coloration noire dans la mélanurie, la coloration verdâtre ou brun pâle des urines ictériques, les colorations spéciales dues à certains médicaments, la rhubarbe, le séné, le bois de campêche, le café, la térébenthine, le goudron, l'hydroquinone, l'arbutine, la naphthaline, la fuchsine, l'alizarine, le carmin, la santonine. Cette simple énumération montre qu'il y a de nombreux sujets d'observation dans la spectroscopie de l'urine. Je n'y ajouterai pas même la liste complète de tous les pigments et des matières colorantes que les chimistes ont décrites, et dont la synonymie est fort complexe, mais je me contenterai de résumer les résultats les plus précis qui peuvent intéresser l'urologie, au point de vue de la séméiologie pratique, de la pathologie générale, et de la physiologie générale de la nutrition.

Il est difficile d'établir une classification naturelle des matières colorantes de l'urine, cependant, l'on peut distinguer entre elles trois groupes principaux, les pigments colorants normaux de l'urine, les pigments ayant une origine anormale, et les pigments accidentels dus à l'excrétion par les reins d'une substance colorante ingérée et absorbée dans l'intestin.



Les pigments anormaux présentent une analogie de composition et d'origine avec les pigments normaux de l'urine et d'autres pigments tels que ceux de la bile et du sang, qui rendent quelquefois indécise la limite entre ces deux groupes. C'est ainsi que l'indogène, l'uroérythrine, ont pu être considérés pendant longtemps comme n'existant pas dans l'état de santé normal, ou bien que l'hématoporphyrine pigment anormal peut se rencontrer en très petites quantités à l'état normal ; l'urobiline normale et les urobilines pathologiques ont été d'abord analysées et dosées sans qu'on les distinguât entre elles comme il est possible de le faire actuellement. Mais il existe dans le mode d'origine des pigments urinaires proprement dits, un caractère commun offrant une grande importance, c'est-à-dire que les pigments urinaires sont produits par des substances chromogènes éliminées par les reins. Ces chromogènes, qui peuvent d'ailleurs avoir une coloration faible, produisent par leur exposition à l'air, par divers réactifs et probablement aussi pendant leur évolution à travers les voies urinaires (les bassinets et la vessie), des pigments particuliers, dont les divers degrés d'oxydation sont l'origine des nombreuses substances colorantes qui ont été décrites par les

chimistes et dont les propriétés spectroscopiques présentent une analogie très évidente.

Le tableau suivant est un essai de classification répondant à ces considérations :

### MATIÈRES COLORANTES DE L'URINE

#### NORMALES

*(Dérivées de chromogènes)*

Pigment jaune.

Urobiline (ou urochrome).

Urospectrine.

Pigment rouge.

Indican (Indogène).

Pigment urinaire rouge. Uroroséine.

Pigments humiques (Uromélanine).

Uriane. Pigment ferrugineux de l'urine.

#### ANORMALES

*(D'origine pathologique)*

Uroérythrine.

Urobilines pathologiques.

Urohématoporphyrine.

Pigments biliaires (Cholécyanine-Bilirubine).

Pigments du sang (Hémoglobine et ses dérivés).

#### ACCIDENTELLES

Pigments de la santonine, de l'indigo, de l'alizarine, de la garance, de la rhubarbe, du séné, du bois de campêche, des carottes ou carottine, des mûres, des cerises, du café.

Réactions colorées de l'antipyrine, de l'acide salicylique, de la thalline, de l'hydroquinone, du naphthol, etc.



**Urobiline** ( $C^{32}H^{40}Az^4O^7$ ). — Le pigment *jaune* ou urobiline, qu'il serait préférable de dénommer urochrome avec Gauthier, a été l'objet d'un nombre considérable d'études, il présente des réactions spectroscopiques caractéristiques.

Lorsque l'urine est fortement colorée, et qu'elle contient une dose élevée d'urobiline, on peut constater directement les caractères spectroscopiques en examinant l'urine avec un simple spectroscope à vision directe, et à l'aide de certains réactifs.

Les urines qui renferment de l'urobiline en forte proportion présentent une coloration brun rougeâtre qui ressemble à celle des urines ictériques. Gubler les avait appelées urines hémaphéiques et avait signalé la coloration légèrement ictérique des téguments qui les accompagnait, caractérisant l'ictère hémaphéique et l'ictère des nouveau-nés.

Il est maintenant démontré que cette coloration des téguments a une origine plus complexe, et peut être produite par d'autres pigments, et principalement le pigment biliaire. Néanmoins, c'est habituellement la coloration anormale foncée de l'urine qui donne l'indication d'y rechercher l'urobiline pathologique. Dans la plupart des recherches faites antérieurement à celles

de Mac-Munn, l'on s'est contenté d'apprécier la quantité d'urobiline avec les caractères de ce pigment tels qu'on les connaissait, mais désormais la distinction doit être plus parfaite si l'on veut obtenir des résultats applicables soit à la pathologie générale ou simplement à la séméiologie de l'urine.

Le *procédé de Salkowski* est le plus simple qui permette de retrouver le spectre de l'urobiline, même lorsque l'urine ne le montre pas à l'examen direct.

On agite 50 à 100 centimètres cubes d'urine avec partie égale d'éther pur ne contenant ni alcool ni acide, on sépare l'extrait éthéré dans un entonnoir à robinet, et l'on y ajoute quelques centimètres cubes d'alcool. La solution est jaune et présente une fluorescence verte et la bande caractéristique de l'urobiline.

Le *procédé de Méhu* permet de préparer de plus grandes quantités et enfin d'isoler l'urobiline pure. L'urine est acidulée avec 1 à 2 grammes d'acide sulfurique par litre, et mélangée avec du sulfate d'ammoniaque pur en excès. Il faut presque autant de sulfate d'ammoniaque que d'urine, on agite le mélange longtemps et l'on observe déjà des flocons ocracés du pigment, on filtre, et le liquide doit ressortir



incolore si on a enlevé tout le pigment. Le filtre contient encore l'excès de sulfate d'ammoniaque mélangé avec le pigment ; il est essoré entre des feuilles de papier filtre et desséché. On sépare le pigment au moyen de l'alcool absolu, et l'on obtient une solution d'urobiline jaune, rouge, suivant la condensation. Pour isoler l'urobiline pure, on évapore et on redissout par l'alcool absolu. Ce procédé a été utilisé pour le dosage de l'urobiline par Viglezio, ainsi qu'on le verra plus loin (p. 23).

Le *procédé de Mac-Munn* est préférable pour l'étude des variétés de l'urobiline et des pigments pathologiques. L'urine est filtrée sur l'acétate et le sous-acétate de plomb ; le précipité est traité par un mélange d'alcool rectifié 68 parties, et d'acide sulfurique, 12 parties. La solution alcoolique est diluée avec de l'eau distillée puis agitée avec du chloroforme qui dissout le pigment, cette solution est recueillie au moyen d'un entonnoir à séparation et pour obtenir le pigment pur, il suffit de l'évaporer à la température ordinaire.

Le *procédé* plus récent de *Studensky*, qui peut être utilisé pour l'analyse quantitative de l'urobiline, consiste à agir sur 20 centimètres cubes d'urine à laquelle on ajoute 2 centimètres



cubes d'une solution de sulfate de cuivre saturée à froid, puis du sulfate d'ammoniaque cristallisé jusqu'à saturation, et enfin 10 centimètres cubes de chloroforme; on agite plusieurs minutes et il se fait une couche de chloroforme colorée en rouge que l'on sépare avec l'entonnoir à robinet. Si l'on a des solutions graduées d'avance, on peut apprécier l'intensité de la couleur et par comparaison doser l'urobiline.

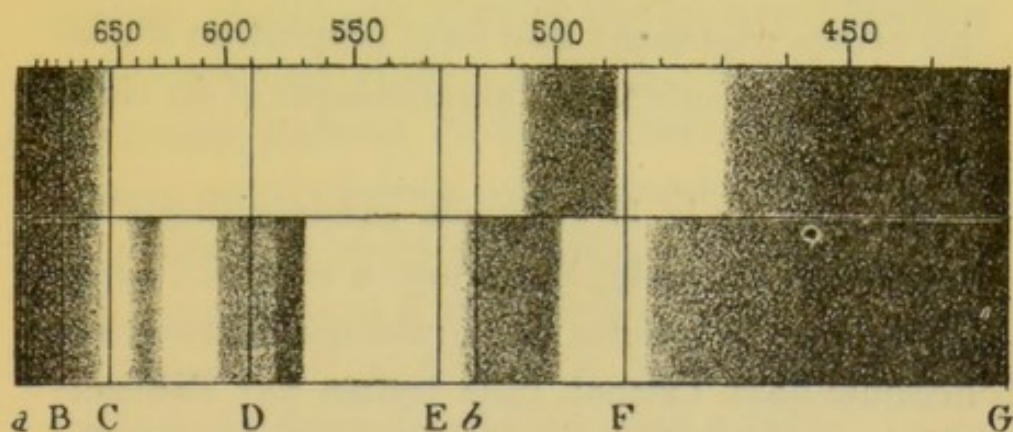
**Caractères de l'urobiline.** — Quel que soit le procédé employé, on n'a pu obtenir l'urobiline cristallisée, elle se présente sous forme de poudre amorphe jaune brun avec reflets verdâtres. Elle est facilement soluble dans l'alcool, le chloroforme, les acides, l'eau acidulée, soluble en partie dans l'éther, la benzine.

Les solutions d'urobiline sont plus ou moins jaunes ou même jaune orangé dans l'alcool, rouges ou rouge cramoisi dans le chloroforme, elles jaunissent sous l'influence des alcalis et rougissent par l'action du chlorure de zinc. Elles présentent, lorsqu'elles sont additionnées d'ammoniaque puis traitées par une petite quantité de solution de chlorure de zinc au centième, une fluorescence verte très prononcée, avec aspect dichroïque, qui est caractéristique.

Les réactions spectroscopiques de l'urobiline

sont très nettes, celle qui domine est l'existence d'une bande d'absorption située dans le vert et le bleu cyané, entre la raie *b* et la raie F. Cette bande est située entre 510  $\lambda$  et 485  $\lambda$ , c'est-à-dire laisse un léger espace entre la raie *b* et son bord gauche, et elle peut dépasser la raie F à droite. Les bords du spectre sont un peu moins foncés que la partie centrale qui est située vers 500  $\lambda$ , c'est-à-dire plus près de F que de *b* (*fig. 1*).

Ce spectre s'observe dans l'urine acide, et dans



*Fig. 1* — Spectres de l'urobiline.

*Spectre supérieur.* — Urobiline en solution alcoolique, diluée.

*Spectre inférieur.* — Urobiline traitée par l'ammoniaque et le chlorure de zinc. La bande à droite de E est constante. — Les bandes près de C et sur D sont exceptionnelles (Mac-Munn).

les solutions d'urobiline diluées, acides, c'est-à-dire aux deux centièmes environ et même moins, tandis que dans les solutions très concentrées, par exemple au dixième, à une épaisseur d'un centimètre, on ne voit dans le spectre que l'orangé et le jaune et le jaune vert, il y a de B à C



obscurité moindre et du milieu de la plage D à E jusqu'à E une demi-obscurité mais les autres plages sont tout à fait obscures.

Lorsqu'on rend les solutions alcalines et surtout en y ajoutant de l'ammoniaque et du chlorure de zinc, la bande est déplacée, elle se porte vers *b* et E, c'est-à-dire environ entre 510 et 517, cette bande a d'ailleurs une obscurité moindre que la précédente.

On peut encore constater ce phénomène dans les urines contenant une forte proportion d'urobiline en y ajoutant de l'ammoniaque et du chlorure de zinc.

En plus de la large bande caractéristique de l'urobiline normale, Mac-Munn a signalé l'apparition dans le spectre de l'urobiline isolée et redissoute dans l'alcool, puis traitée par l'ammoniaque et le chlorure de zinc, deux bandes supplémentaires, la première, à droite de C très légère, la seconde des deux côtés de D. Elles sont distinctes des réactions très analogues de l'urobiline pathologique. Elles sont représentées dans le spectre inférieur de la *fig. 1* d'après Mac-Munn et suivant notre échelle.

Une troisième réaction dont Bogomoloff a montré l'importance consiste à rendre neutres les solutions alcalines d'urobiline en y ajoutant

du sulfate de fer, on peut alors en extraire, au moyen du chloroforme, une substance de couleur cramoisie qui présente une bande étroite située au niveau de la raie E.

En ajoutant à cette solution de nouveau un alcali, elle change de couleur, devenant rouge jaune, et l'on y retrouve la bande primitive de *b* à E.

Enfin cette solution alcaline, étant neutralisée et acidifiée par l'acide acétique, devient jaune rouge, et présente alors la bande caractéristique de l'urobiline entre *b* et F. Au début de cette dernière réaction la bande entre *b* et F est à peine aussi obscure que la bande située en E, mais celle ci s'affaiblit, disparaît, tandis que la bande entre *b* et F devient plus nette.

Bogomoloff a déduit de cette propriété un moyen de doser l'urobiline (voir p. 28).

**Dosage de l'urobiline.** — La recherche de l'urobiline dans l'urine peut être faite par l'examen direct avec le spectroscope, et si l'on examine l'urine dans des tubes plus ou moins profonds ou plus ou moins larges on peut apprécier approximativement la quantité d'urobiline contenue dans l'urine, mais pour une analyse plus exacte, il faut un procédé plus rigoureux. On doit se proposer de résoudre le problème



suivant : à quelle épaisseur peut-on observer nettement le phénomène de la bande caractéristique ? Et alors on en déduira la quantité d'urobiline, à l'aide de tables établies d'avance.

Le phénomène de la bande unique entre *b* et *F* s'il n'y a pas dans l'urine de pigments biliaires est assez facilement délimité, c'est ainsi qu'on peut rechercher l'épaisseur où l'urine est assez colorée pour que tout l'espace en *b* et *F* soit obscur, sauf un léger espace entre *b* et le bord gauche de la bande de l'urobiline, c'est-à-dire entre 515 et 485  $\lambda$ .

Pour apprécier l'épaisseur de l'urine à laquelle s'observe nettement le phénomène de la bande unique caractéristique de l'urobiline, je me suis depuis longtemps servi d'une éprouvette graduée à fond bien plat ou d'un godet gradué placé sur un miroir incliné, puis d'une indigo-tière ou vase prismatique à faces bien planes portant une graduation correspondante à une échelle construite empiriquement ; cet appareil fort simple, donne des épaisseurs graduellement progressives. On a employé dans le même but les spectroscopes à épaisseur variable de Moitessier, celui d'Yvon (voir Chap. V).

Tous ces instruments ont le défaut de ne pas permettre l'examen de grandes épaisseurs

d'urine. J'ai essayé de les remplacer par un urospectroscope qui permet d'examiner l'urine à des épaisseurs de 1 à 10 centimètres, et plus récemment Gautrelet a établi un urobilinimètre ou pigmentomètre reposant sur des principes analogues, mais offrant une disposition toute nouvelle qui rend plus facile la lecture des épaisseurs et l'appréciation de la quantité d'urobiline <sup>(1)</sup>.

Malheureusement, tous ces procédés sont passibles des mêmes objections, ils peuvent être employés avec utilité entre des mains exercées, pour l'urobiline en solutions, mais ils ne donnent pas des indications rigoureuses pour l'urine où les phénomènes sont bien moins nets et où ils sont souvent obscurcis par la présence de divers pigments; il faut donc leur préférer des procédés plus exacts qui consistent à isoler l'urobiline. Le plus simple est celle de Viglezio.

**Procédé de Viglezio.** — On prend 300 centimètres cubes d'urine fraîche, acidifiée avec acide acétique, ou acide sulfurique, elle est saturée de sulfate d'ammoniaque (environ 230 à

---

(1) GAUTRELET. — *Technologie de l'urobiline. Essai de spectroscopie urologique*. Revue des maladies de la nutrition. p. 481, 450, 1896 et p. 40, 106, 170 et 350, 402, 1897.



240 grammes). On agite pendant une heure et on filtre ; le filtrat ne doit plus donner de trace d'urobiline à l'examen spectroscopique direct. On lave le précipité plusieurs fois avec une solution saturée de sulfate d'ammoniaque, et enfin on laisse dessécher. Le pigment est alors recueilli au moyen de l'alcool, 100 à 300 centimètres cubes.

La solution est disposée dans une pipette de Mohr graduée en centièmes de centimètres cubes.

On met ensuite dans une petite cuvette contenant 10 centimètres cubes d'alcool à 60°, deux gouttes d'ammoniaque et deux gouttes d'une solution de chlorure de zinc à 1 ou 2 %<sub>0</sub>. On y fait alors écouler la solution d'urobiline jusqu'à ce que l'on puisse constater l'apparition de la fluorescence dans la petite cuvette et on note la quantité de la solution ; en laissant encore écouler du liquide (deux à trois fois plus), on peut constater l'apparition de la bande entre *b* et F. Ces deux chiffres servent à déterminer la quantité d'urobiline, d'après une formule établie par Viglezio <sup>(1)</sup> au moyen de dosages d'urobiline

---

(1) VIGLEZIO. — *Sulla patogenesi dell'urobilinuria*. Lo Sperimentale. Anno XLV, 15 septembre 1891. Memorie originali, Fascicoli III et IV.



préparée par la méthode de Jaffé et en solution à  $\frac{1}{100}$ .

Pour obtenir la *fluorescence*, il a employé  $0^{\text{cm}^3},05$  de la solution et, pour la production de la *bande* caractéristique,  $0^{\text{cm}^3},17$ .

La formule arithmétique est simple,  $x$  désignant la quantité d'urobiline contenue dans 300 centimètres cubes d'urine et  $n$  le nombre de centièmes de centimètres cubes nécessaires pour produire la bande caractéristique, la quantité d'urobiline contenue dans la solution et par conséquent dans l'urine est donnée par la formule  $x = \frac{0,17}{n}$ . Si l'on a pris sur 300 centimètres cubes d'extrait alcoolique, pour obtenir la réaction, 0,15 ou 15 centièmes de centimètres cubes

$$x = \frac{0,17}{15} = 0^{\text{gr}},011.$$

Dans la pratique, le mode de dosage est également basé sur la production de la fluorescence. L'examen spectroscopique est employé comme moyen d'analyse plus rigoureuse.

Par ce procédé, Viglezio a pu constater des variations dans la quantité d'urobiline de  $0^{\text{gr}},06$  à  $0^{\text{gr}},6$  et même 6,82 maxima et 0,001 à 0,01 dans les minima, soit un rapport de 1 à 60, mais les minima correspondent plutôt à l'état

normal, dont la moyenne serait environ de 0,3 à 0,4 par litre.

Les plus grandes quantités d'urobiline (0,82) ont été rencontrées dans un cas de rhumatisme et 0,60 dans un cas de cancer de l'estomac, avec anémie cachectique (1 700 000 globules rouges, *observ.* 33, p. 252). Dans un cas de purpura hémorrhagique, la quantité totale a été de 0,014, c'est à peu près le minimum. Dans la chloro-anémie, les quantités varient entre 0,16, 0,19. Dans l'anchoylostomoanémie, elle a été de 0,18. Dans un cas d'anémie pernicieuse avec 2 800 000 globules, de 0,25, elle est descendue à 0<sup>gr</sup>,047.

Les variations de l'urobiline dans l'infection malarique est fort intéressante à étudier ; en effet, dans un cas de fièvre tierce, Viglezio observa les chiffres suivants :

Dans les douze heures suivant un premier accès . . . . .	0,168	d'urobiline
Dans les douze heures précédant l'accès suivant . . . . .	0,250	"
Dans les douze heures de la période fébrile . . . . .	0,630	"
Dans les douze heures suivant l'accès . . . . .	0,202	"
La quantité totale d'urobiline excrétée vingt-quatre heures après l'accès atteint le chiffre considérable de . . . . .	0,832	"



L'urobilinurie est constante dans le rhumatisme où la quantité totale quotidienne a varié, suivant les cas, entre 0,22, 0,14, 0,12. Dans un cas de pleuro-péricardite avec pneumonie, elle s'est élevée à 0<sup>gr</sup>,607.

Cette observation démontre <sup>(1)</sup> que l'augmentation de l'urobiline n'est pas en relation avec l'élévation de la fièvre, et encore moins une lésion du foie. L'urobilinurie est déjà plus forte dans les heures qui précèdent l'accès et nous savons qu'à ce moment les plasmodes pouvant s'introduire dans les globules du sang ne les détruisent pas encore, Au moment où les plasmodes se rendent libres dans le sang, le frisson survient, la température s'élève et la production d'urobiline s'exagère; or, dans cette période, il y a non seulement accumulation des globules du sang altérés dans la rate, la moelle des os, les glandes lymphatiques, mais aussi une quantité énorme de détritits pigmentaires et de fragments des globules qui encombrent la circulation dans ces organes et diminuent l'élaboration et l'élimination du pigment sanguin.

Les antipyrétiques diminuent la production de l'urobiline, par exemple l'exalgine, l'antipy-

---

(1) VIGLEZIO. — *Loc. cit.*, 246.

rine, la phénacétine ont diminué la quantité d'urobiline, 6 grammes de salicylate de soude dans le rhumatisme ont fait tomber la quantité d'urobiline de 0,12 à 0<sup>sr</sup>,009.

En résumé, si Viglezio attribue l'urobilinurie à l'hémolyse, c'est-à-dire à l'exagération des causes de la destruction des globules, les altérations du foie ne sont pas pour lui la cause directe de l'urobilinurie (voir p. 40).

La **Méthode de Bogomoloff** (voir p. 20) est basée, d'une part, sur les différences de coloration et de réactions spectroscopiques que présente l'urine contenant de l'urobiline pathologique. Lorsque l'urine est colorée en vert émeraude par une solution de sulfate de cuivre, elle donne un trouble brun jaunâtre. Si la réaction est acide le chloroforme en extrait une matière couleur jaune rouge présentant une bande entre *b* et F. Si l'urine est alcaline le trouble est rouge cramoisi, et avec le chloroforme, on en extrait une matière colorante rouge cramoisi avec une bande entre E et F. Il est vraisemblable que, dans ces réactions, le sulfate de cuivre sépare l'urobiline de sa combinaison avec les phosphates. En ajoutant à ces phénomènes, la notion de la faible acidité de l'urobiline, l'auteur s'est proposé de la titrer



comme un acide. Comme indicateurs de l'apparition de la réaction Bogomoloff emploie la couleur et l'analyse spectroscopique et, d'autre part, les modifications de ces réactions avec le sulfate de cuivre et le chlorure de zinc.

L'acidité de l'urobiline est dix fois plus faible que celle de l'acide oxalique, par conséquent, en employant la solution centinormale de soude, il en faudra pour saturer 1<sup>er</sup> d'urobiline dix fois moins que pour 1<sup>er</sup> d'acide oxalique. Comme l'urobiline reste en solution avec les phosphates, il faut d'abord précipiter les phosphates par la solution de soude, la quantité de cette solution nécessaire pour amener la neutralisation de l'urine fait, d'une part, déterminer l'acidité totale de l'urine; et, d'autre part, la quantité de soude nécessaire pour rendre alcaline cette urine neutralisée donnera la quantité d'urobiline.

Pour faire l'examen spectroscopique, on remplit deux petites éprouvettes graduées ou godets gradués, de 1 à 2 centimètres de diamètre, on verse dans chacun de ces récipients une quantité égale d'urine, puis on verse goutte à goutte dans l'un d'eux la solution centinormale de soude, on essaie la réaction jusqu'à ce qu'elle devienne neutre, on note la quantité employée. A ce

moment on ajoute avec le plus grand soin la solution alcaline pour obtenir de nouveau la réaction alcaline. Aussitôt que celle-ci est obtenue, l'urine prend une coloration verdâtre et l'on voit apparaître avec le spectroscope, la bande d'absorption de l'urobiline alcaline. On peut comme moyen de contrôle faire la détermination sans spectroscope ; pour cela, on ajoute à l'urine, du chloroforme et lorsqu'elle est rendue acide l'on y ajoute quelques gouttes d'une solution de sulfate de cuivre à 0,1 %, le chloroforme se colore en rouge cramoisi.

On reprend cette mixture et on la neutralise, elle est filtrée et rendue alcaline. Au moment où l'urine devient alcaline, elle prend une coloration verdâtre. Additionnée d'une solution de chlorure de zinc elle est verte, tandis qu'elle devient rouge vif par le sulfate de cuivre. Si l'on a noté la quantité de centimètres cubes de la solution titrée centinormale nécessaire pour rendre alcaline l'urine neutralisée, en multipliant par le coefficient 0,00063 le chiffre des centimètres cubes, on a la quantité d'urobiline contenue dans la quantité d'urine employée pour l'analyse.

Le *procédé de Denigès* consiste à isoler l'urobiline des autres pigments de l'urine. Il emploie



le sulfate mercurique préparé de la manière suivante :

Oxyde mercurique . . . . .	5 grammes
Acide sulfurique . . . . .	20 centimètres cubes
Eau . . . . .	100 parties

mêler l'acide et l'eau, puis ajouter l'oxyde mercurique qui se dissoudra par agitation.

M. Denigès a donné le résumé des résultats de ses recherches <sup>(1)</sup> dans les termes qui suivent :

Avec des solutions aqueuses d'urobiline pure, additionnées de quantités suffisantes d'eau distillée, ou bien avec des urines biliaires interceptant toute lumière à partir du jaune sous une épaisseur de 2 centimètres, la bande d'absorption, après traitement par le sulfate mercurique et filtration, a présenté la même intensité que celle de la solution aqueuse d'urobiline type amenée par addition d'eau au même degré de dilution.

On peut donc effectuer facilement en utilisant ce procédé, non seulement la recherche, mais un dosage spectrophotométrique de l'urobiline.

Dans la pratique, on opérera la séparation

---

(1) *Société de biologie*, 20 mars 1897, p. 289.



des colorants étrangers en ajoutant à l'urine (à 10 centimètres cubes, par exemple) la moitié de son volume (5 centimètres cubes) du réactif mercurique, on agitera puis on filtrera au bout de cinq à six minutes afin de séparer les combinaisons mercuriques insolubles formées. La liqueur claire se prêtera, dès lors, à l'examen spectroscopique. Si elle se troublait au bout de quelque temps, on filtrerait à nouveau.

L'auteur n'indique pas quelle est l'action du réactif sur les urobilines pathologiques ni sur l'urohématoporphyrine, mais ce procédé, qui permet de séparer l'urobiline, des pigments biliaires, présente une réelle utilité.

**Urobilines pathologiques.** — La plupart des auteurs qui ont recherché ou dosé l'urobiline considéraient ce pigment comme le plus important de ceux de l'urine, et longtemps on s'est contenté du dosage de l'urobiline reconnue à sa bande caractéristique et à la fluorescence. Mac-Munn, en 1880, a démontré que l'étude de l'urobiline est beaucoup plus complexe dans les états pathologiques, les états fébriles plus particulièrement, et il a défini les caractères des modifications pathologiques de l'urobiline, sous le nom d'*urobiline fébrile*, puis une transformation fort importante de ce pigment en *urohéma-*

*toporphyrine*, enfin il existerait encore une *urobiline anormale intermédiaire* entre ces deux dérivés. Nous ne saurions mieux exposer les modes de préparations et les caractères spectroscopiques de l'urobiline fébrile qu'en donnant l'analyse d'une des premières observations de Mac-Munn.

**Urobiline pathologique dans un cas de péritonite tuberculeuse**<sup>(1)</sup>. — L'urine avait une coloration orangée. Elle montrait une bande en F de 502 à 479  $\lambda$  s'étendant à une plus grande épaisseur de 504 à 475  $\lambda$ . Traitée par l'acétate et le sous-acétate de plomb, elle donne un précipité sur lequel on verse de l'alcool additionné d'acide sulfurique (12 H<sup>2</sup>SO<sup>4</sup> pour 68 alcool).

Le filtrat rouge foncé montra une faible bande en D, une autre entre D et E et une bande noire en F. Cette dernière offrit cette particularité commune d'ailleurs avec l'hydrobilirubine, la stercobiline et l'urobiline biliaire, à savoir qu'elle présentait une obscurité diminuant graduellement, mais sur une étendue égale à la

---

(1) MAC-MUNN. — *Journal of Physiology*, vol. X, page 75. *On the origin of urohematoporphyrin and of normal and pathological urobilin in the organism. With Five Charts of spectra* (Pl. X à XIV).



partie la plus noire de la bande, dépassant F vers le violet. Ce liquide dilué avec de l'eau et agité avec du chloroforme, donna un extrait chloroformique du pigment coloré en rouge qui par l'évaporation à la température de l'air ambiant laissa déposer le pigment sous forme de substance amorphe d'un brun rougeâtre, soluble dans les dissolvants ordinaires de l'urobiline.

La solution chloroformique présentant une couleur rouge foncé, montrait une bande devant D, une dans le vert en outre de la bande à F. La première environ 619 à 591  $\lambda$ , la seconde 567 à 547  $\lambda$ , la bande noire la plus proche du violet occupait de 517 à 464  $\lambda$  dans une solution concentrée. Ce qui est une grande largeur que l'on ne rencontre pas dans l'urobiline normale.

La solution alcoolique avait une belle coloration de vin rouge, et montrait une bande à D, une autre dans le vert et enfin la bande noire à F. La première située de 607 à 587  $\lambda$ , la seconde de 577 à 552, et celle à F en solution moins concentrée que la précédente, de 504 à 477  $\lambda$  avec sa partie la plus foncée de 501 à 479  $\lambda$ .

L'action de l'ammoniaque sur cette solution est digne d'attention, elle produit quatre bandes

ayant une très grande ressemblance avec celles de l'urohématoporphyrine alcaline, ce qui ne se présente certainement pas dans une solution d'hydrobilirubine, en même temps la bande de l'urobiline en F disparut complètement, le liquide devenant d'une couleur plus claire. La bande étroite et faiblement obscure dans le rouge, étendue de 625 à 615  $\lambda$ , n'était perceptible qu'à une forte épaisseur de liquide, l'obscurité commençant avant la deuxième bande à environ 597  $\lambda$  s'étendait à 581  $\lambda$ , à partir de ce point, la seconde bande devenait plus foncée, s'étendant jusqu'à 560  $\lambda$ . La troisième bande était située à 560  $\lambda$ , la quatrième de 542 à 521  $\lambda$ .

La disparition totale de la bande à F distingue tout à fait cette matière colorante de l'urohématoporphyrine.

En ajoutant du chlorure de zinc à la solution alcoolique ammoniacale et filtrant, on percevait une splendide fluorescence verte et de nouvelles bandes se montraient. Le spectre obtenu avec une couche épaisse de liquide présente une première bande étendue de 653 à 622  $\lambda$ , la seconde de 587 à 567,5  $\lambda$  dans sa partie la plus foncée, et la troisième bande dans une couche épaisse et fort large, d'environ 518,5 à 473  $\lambda$ , tandis que, pour une épaisseur plus faible, elle



s'étendait de 517 à 493  $\lambda$ . La partie la plus noire de cette bande était du côté du rouge, la partie située vers le violet se terminait par une dégradation prolongée, ce qui est une distinction caractéristique entre l'urobiline normale et l'urobiline pathologique.

L'hydroxyde de sodium ajouté à une solution alcoolique produit un précipité, mais après filtration la solution a une couleur orangée, et alors le spectre présente les modifications suivantes : les première, deuxième et troisième bandes se confondent les unes avec les autres, et elles s'étendent, la première de 653 à 625  $\lambda$  avec un renforcement noir de 647 à 627  $\lambda$ , la deuxième de 597 à 577  $\lambda$ , une simple ombre, la troisième de 571 à 559  $\lambda$ . La bande noire s'étend de 520 à 494  $\lambda$  avec la partie la plus sombre entre 517 et 496  $\lambda$ .

La potasse produit le même effet, les acides ne déterminent pas de changements caractéristiques dans le spectre.

Cet exemple peut être considéré comme typique des caractères de l'urobiline pathologique.

La *fig. 2* représente le spectre de l'urobiline pathologique en solution alcoolique acide que j'ai extraite de l'urine d'un malade atteint

d'abcès du foie communiquant avec une cavité

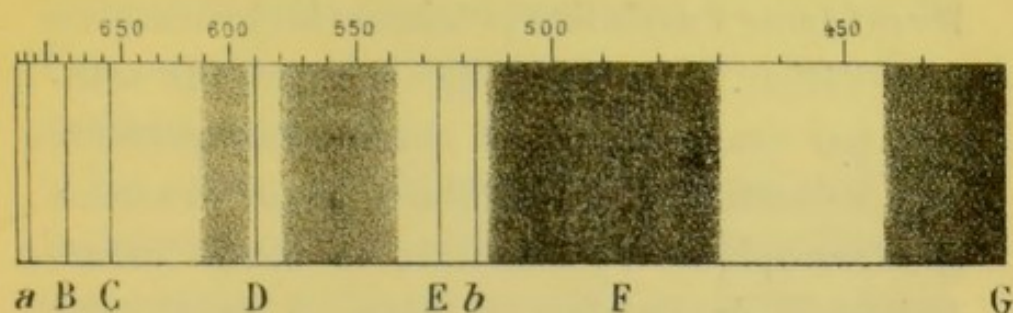


Fig. 2. — Spectre de l'urobiline pathologique.

bronchique.

**Chromogène de l'urobiline.** — Le pigment jaune de l'urine ou urobiline a pour origine un chromogène particulier, qui peut spontanément se transformer en urobiline, ou bien colorer l'urine par l'exposition à la lumière, et qui devient plus apparent par l'action de l'acide chlorhydrique sur l'urine. On voit, en effet, la coloration de l'urine s'accroître lorsqu'on la fait bouillir avec de l'acide chlorhydrique ou de l'acide azotique, mais les changements ainsi observés sont probablement dus à l'oxydation de plusieurs chromogènes ; celui de l'urobiline peut être isolé par le procédé très simple de Winter. L'urine est saturée par le sulfate d'ammoniaque, les pigments précipités sont séparés par filtration, desséchés et lavés sur le filtre avec de l'éther. La solution étherée renferme le chromogène de l'urobiline ; on ajoute de l'eau



qui, après agitation, est séparée de l'éther, enlevant toute l'urobiline et laissant le chromogène dans l'éther. Il est facile de concentrer la solution par évaporation. Le chromogène présente une coloration jaune ambrée, mais l'examen spectroscopique n'y démontre la bande caractéristique de l'urobiline, entre *b* et F, que si l'on y ajoute quelques gouttes d'acide azotique.

**Rôle de l'urobiline et de ses dérivés.** — Pour bien comprendre le rôle de l'urobiline, il faut se reporter au chapitre *Spectroscopie de la bile* <sup>(1)</sup>, où sont établies les relations entre la matière colorante de la bile, la bilirubine et l'hydrobilirubine, entre l'hématine et l'urobiline, enfin entre la stercobiline et l'urobiline ; il semble pour le moment tout à fait rationnel de considérer ces substances (hydrobiline, urobiline, stercobiline) sinon comme absolument identiques, au moins comme formant un groupe ayant des réactions très analogues, en particulier leurs bandes d'absorption dans la région bleue du spectre et leur fluorescence ; bien que distinctes

---

<sup>(1)</sup> HÉNOQUE. — *Spectroscopie biologique*, II, p. 106 et suiv. Encyclopédie scientifique des Aide-Memoire, Masson et Gauthier-Villars, éditeurs.

par quelques particularités de leur spectre, elles présentent cette origine commune de dériver de l'hémoglobine par rétrogradation ou transformations successives.

En outre, les pigments biliaires ne sont pas seulement excrétés sous forme de stercobiline, et une certaine partie est résorbée peut-être à l'état de chromogène plutôt qu'à l'état d'urobiline vraie, mais, dans tous les cas, le pigment ou le chromogène sont éliminés par les reins, et constituent dans l'urine, l'urobiline.

Telle semble être la fonction normale de ces pigments. Mais l'urobiline peut avoir une autre origine ainsi que le prouvent les observations pathologiques. En effet, il est démontré que la bilirubine peut être produite dans les extravasations sanguines, aux dépens de l'hématoïdine, de l'hématine, et même de l'hémoglobine séparées des globules rouges du sang ; cette bilirubine serait alors éliminée le plus ordinairement par les reins sous forme d'urobiline, surtout dans les états pathologiques.

L'urobiline ne se montre dans l'urine à l'état normal que sous forme de chromogène de l'urine et en quantité très faible, mais elle augmente dans les urines des individus atteints de fièvre ou dans des conditions pathologiques diverses et



l'étude de ces variations a certainement servi à faire connaître la série des transformations de l'urobiline.

En effet, dans les conditions physiologiques, l'urobiline a pour origine la réduction de la bilirubine et de la biliverdine; on la retrouve surtout dans le gros intestin, et elle constitue la stercobiline.

Néanmoins, de nombreuses observations établissent que la quantité d'urobiline varie dans des limites fort étendues suivant les états pathologiques, puisque Viglezio (p. 25) a trouvé des quantités quotidiennes variant entre 3 et 600 milligrammes et, d'une manière générale, il est permis de conclure que l'augmentation de l'urobiline (c'est-à-dire l'*urobilinurie*) s'observe, d'une part, dans les maladies fébriles aiguës, la fièvre intermittente, le rhumatisme aigu, l'ileus, la péritonite, la phtisie, la pneumonie, les maladies zymotiques, rougeole, fièvre typhoïde, le scorbut, la septicémie; elle a, dans ces affections, pour origine principale les altérations du sang, c'est-à-dire l'hémolyse. D'autre part, dans les hémorrhagies internes, les épanchements et les suffusions sanguines, les larges ecchymoses (hémorrhagies cérébrales, hématocele périutérine, infarctus pulmonaires)

l'augmentation de l'urobiline est d'origine hématurique directe par résorption de pigment formé dans les tissus, soit bilirubine, soit hématorporphyrine ou hémochromogène.

Enfin l'urobiline est plus abondante aussi dans tous les troubles des fonctions du foie, résultant d'injections toxiques ou d'absorption de produits toxicohémiqques ou même de troubles de l'excrétion biliaire comme dans l'ictère spasmodique ou par rétention, la cholélithiase.

La quantité d'urobiline est diminuée dans les maladies dues au ralentissement de la nutrition générale, la chloro-anémie, l'hystérie; en général, lorsque l'activité fonctionnelle du foie ou de l'hématopoïèse est ralentie.

---



## CHAPITRE II

---

### PIGMENTS URINAIRES

**Indican. Indogène.** — Le pigment rouge de l'urine a été décrit sous divers noms : l'indican, l'uroxanthine de Heller, l'acide indoxylsulfurique ou indogène.

Le procédé le plus simple pour le constater dans l'urine est celui de Rabuteau, qui consiste à verser dans un récipient 15 à 20 centimètres cubes d'acide concentré, et faire tomber dans ce liquide quelques gouttes de l'urine à essayer. Le mélange se colore en rouge, puis en violet rouge, puis en bleu si l'urine contient de l'indican.

Un procédé plus précis a été décrit récemment par M. Amann, il est basé sur l'oxydation de l'indoxyle par les persulfates alcalins, agissant par dégagement d'ozone. On opère de la manière suivante ; à 20 centimètres cubes d'urine,

on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique pur et 5 centimètres cubes environ de chloroforme, puis 5 centimètres cubes de la solution de persulfate de sodium à 10  $\%$ . On agite en retournant le tube pendant quelques minutes, de manière à diviser le chloroforme sans l'émulsionner. On laisse reposer, l'indigo formé est dissout dans le chloroforme et le colore en bleu plus ou moins intense suivant sa proportion. La quantité relative d'indigo peut être mesurée par comparaison colorimétrique avec des solutions titrées de ce corps servant d'étalons<sup>(1)</sup>.

L'indogène dans certaines conditions donne aux urines, lorsqu'il est en excès, une coloration bleue ou violacée due au mélange d'une matière bleue et d'une matière rouge, l'indigorubine dont l'indogène est l'origine.

On trouve alors une réaction spectroscopique intéressante à constater.

Le spectre obscur de A à C présente une première bande obscure à gauche de D dans le rouge orangé, séparée de D par un espace clair, très étroit, jaune orange, et s'étendant à gauche jusqu'au milieu de l'espace entre D et C. Une

---

(1) AMANN. — *Revue médicale de la Suisse Romande*, 1897, p. 6.



seconde bande à droite de D, presque symétrique à la précédente par rapport à D mais située dans le jaune vert, séparée de D par un espace clair

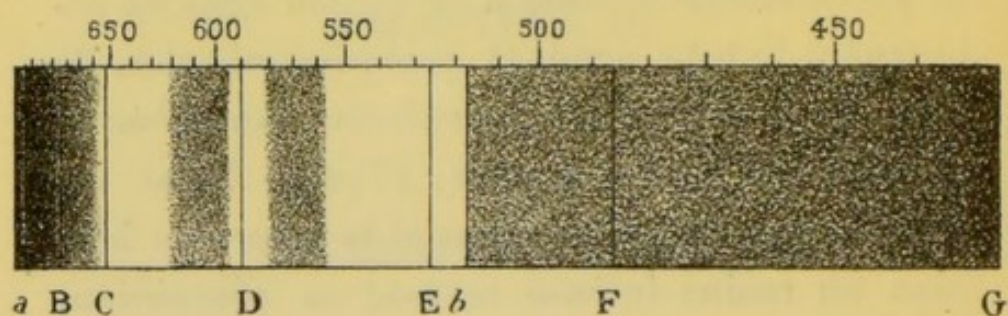


Fig. 3. — Spectre de l'indican.

étroit, jaune, cette bande s'étend dans la plage jaune verte... dont elle occupe le tiers environ. Enfin Mac-Munn a observé une troisième bande, de *b* à F, qu'il attribue à la présence de l'urobiline. L'aspect de ces deux bandes varie suivant que l'indigo bleu ou l'indigo rouge prédomine, et avec les colorations correspondantes de la solution chloroformée obtenue par la méthode de Jaffé ; la première bande dans le rouge orangé est plus foncée dans l'indigo bleu, au contraire, la seconde bande dans le jaune est plus foncée avec l'indigorubine. L'indogène existe dans l'urine normale à l'état de combinaison avec la potasse. Par l'ébullition avec les acides étendus il se dédouble en sulfate acide de potassium et indoxyle (Gauthier).

La quantité d'indican éliminée est de 0,0066 par litre (Jaffé) ce qui donne pour le maximum de la normale, 0,0195. Neubauer et Vogel de leur côté indiquent des quantités variant entre 0,005 à 0,02. La quantité d'indogène est en rapport avec celle de l'indol formée dans l'intestin et absorbée, c'est pourquoi le régime albuminé excessif, l'inanition, augmentent la proportion de l'indican qui peut s'élever à six et onze grammes par jour. Briegmann et Brieger ont démontré que l'indol lui-même est le résultat des produits de putréfaction des matières protéiques, et l'on comprend que toute cause de stagnation des matières dans le tube intestinal produise un excès d'indol et, par suite, un excès d'indogène dans l'urine et l'on a donné le nom d'indicanurie à cet état symptomatique de l'urine. Ce fait est d'ailleurs démontré expérimentalement; d'une part, Kuhn a constaté que l'albumine à l'état cru étant ingérée en excès produit une augmentation d'indican. Le docteur Petitpas répétant ces expériences a produit ainsi une *indicanurie alimentaire* chez des individus sains avec cinq à huit à dix et même dix-huit œufs. D'autre part, Jaffé a constaté l'élimination de l'indican à la suite d'injections sous-cutanées et le



Dr Petitpas <sup>(1)</sup> a pu déterminer aussi quelles sont les quantités d'indol nécessaires à ingérer pour obtenir l'indicanurie (0<sup>gr</sup>,50 à 1<sup>gr</sup>,25 par litre).

Les recherches de Bouchard sur les fermentations intestinales, celles de Charrin, de Roger, sur le rôle antitoxique du foie, et les recherches directes de Jackowski permettent de mieux comprendre l'indicanurie en faisant intervenir l'action des microbes.

Jackowski, observant chez deux hommes atteints, l'un d'une fistule du colon ascendante, l'autre d'une fistule de l'intestin grêle, a constaté que la décomposition des matières albuminoïdes se fait surtout dans le gros intestin et serait due spécialement au *bacillus liquefaciens ilei*, au *streptococcus coli gracilis*, au *bacillus pyocyaneus*, au *bacillus putrefiens coli*, dont il a constaté l'existence, et étudié expérimentalement l'action sur les fermentations ou la putréfaction des substances albuminoïdes.

Ces considérations générales, rendent facile à comprendre la valeur séméiologique de l'indicanurie ayant pour origine à la fois des troubles de la digestion intestinale, et aussi le défaut d'action

---

<sup>(1)</sup> PETITPAS. — *De l'indicanurie, Étude pathogénique et séméiologique*, Thèse de Paris, 1896, n° 466.

de la fonction antitoxique du foie. C'est ainsi que l'on a rencontré l'indicanurie chez les enfants qui ont une alimentation exagérée, dans les affections du tube digestif, la fièvre typhoïde, les affections rénales et même les affections du système nerveux.

En outre, les moyens préventifs ou curatifs sont indiqués naturellement, c'est-à-dire que l'antisepsie intestinale doit avant tout être assurée dans ces états morbides.

**Urospectrine.** — La lumière solaire, les rayons violets en particulier ont une influence marquée sur les chromogènes de l'urobiline, ce qui est facile à constater lorsqu'on expose l'urine fraîche à la lumière solaire ou que l'on prépare l'urobiline en pleine lumière par le procédé de Méhu. Une expérience très simple met en évidence cette action ; en effet, on détermine avec le spectroscope à quelle épaisseur l'urine au moment de l'émission montre nettement la bande caractéristique de l'urobiline, puis on expose l'urine au soleil, et en moins d'une heure la coloration est plus foncée, il faut alors une épaisseur moindre, quelquefois beaucoup moindre pour observer la réaction spectrale. Par exemple, si 6 centimètres d'épaisseur étaient nécessaires lors de l'émission, 3 centimètres peuvent suffire



après l'action solaire durant deux heures, ainsi que je l'ai constaté.

M. Sallet, dans le but d'éviter l'action de la lumière sur les chromogènes de l'urine a pris pour principe de faire l'extraction du pigment urinaire dans l'obscurité ou la lumière rouge; il a ainsi isolé un pigment analogue à l'urobiline mais en différant par ses réactions spectroscopiques, il lui a donné le nom d'urospectrine.

*Préparation* <sup>(1)</sup>. — L'urine du matin surtout, si elle est un peu concentrée, est choisie de préférence; elle est acidifiée avec une dizaine de gouttes d'acide acétique cristallisable pour 100 centimètres cubes et agitée avec un volume d'éther acétique égal au volume d'urine traitée. On sépare ensuite l'éther acétique qui enlève à l'urine les pigments rouges, l'urospectrine et divers autres pigments ou chromogènes, l'indican; pour isoler l'urospectrine, l'extrait éthéré est agité avec de l'eau acidulée à 5 % d'acide chlorhydrique, cette eau s'empare de l'urospectrine et la solution présente une teinte rouge mauve de l'urospectrine en solution acide. Il faut opérer à la lumière rouge, par exemple dans un laboratoire de photographie.

---

<sup>(1)</sup> SAILLET. — *Rev. de Médec.*, 1896, p. 543, 547, *loc. cit.*

Pour isoler l'urospectrine, la solution aqueuse est séparée, neutralisée par l'ammoniaque, puis acidulée d'acide acétique et on la secoue avec de l'éther sulfurique qui s'empare de l'urospectrine seule. En reprenant l'urospectrine à cette nouvelle solution éthérée et en l'agitant avec une petite quantité d'eau acidulée à 3 % d'acide chlorhydrique, on obtient une solution d'urospectrine rouge rubis. Il suffit de séparer l'éther et de neutraliser par l'ammoniaque pour obtenir un dépôt d'urospectrine qui, lavé, desséché, se présente sous forme d'une poudre brune amorphe.

*Caractères.* — L'urospectrine est insoluble dans l'éther de pétrole, à peu près insoluble dans l'eau et le chloroforme, mais soluble dans l'alcool et surtout soluble dans les acides et dans les alcalins.

Les solutions d'urospectrine peuvent offrir trois spectres différents :

1° Dans les éthers purs et l'alcool pur ou acidulé la coloration des solutions est rose, et l'on observe un spectre de cinq bandes d'absorption, la première entre C et D très noire et très étroite, parfaitement limitée (longueur d'onde moyenne 626  $\lambda$ ), la deuxième à la gauche de D très étroite et peu noire (longueur d'onde moyenne 600  $\lambda$ ),



la troisième à la droite D composée d'une bande noire limitée sur sa droite par une autre bande plus étroite et plus noire (longueur d'onde moyenne  $575 \lambda$ ), la quatrième à la gauche de E, large et noire (longueur d'onde moyenne  $535 \lambda$ ), la cinquième entre *b* et F, très large et très noire, longueur d'onde moyenne,  $492$ . L'extrémité violette du spectre est obscurcie à partir de G.

2° Dans les solutions alcalines, la coloration est plus rosée, le spectre présente quatre bandes d'absorption, la première entre C et D peu noire (longueur d'onde moyenne  $622 \lambda$ ), la deuxième à la droite de D, plus large (longueur d'onde moyenne  $570 \lambda$ ), la troisième à gauche de E, noire

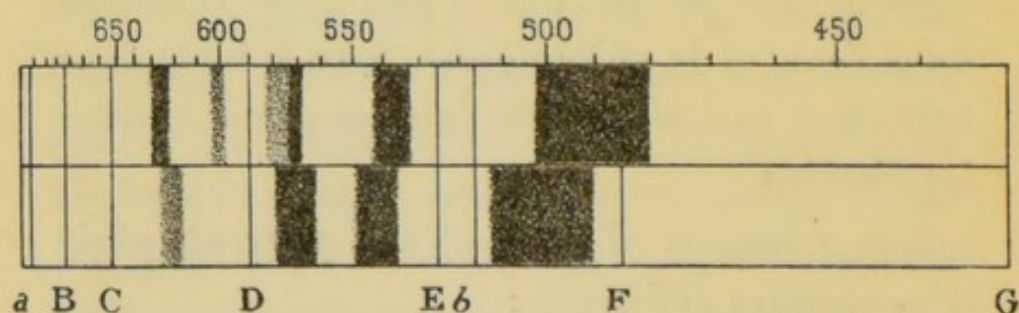


Fig. 4. — Spectres de l'urospectrine.

*Spectre supérieur.* — Solution alcoolique acide.

*Spectre inférieur.* — Solution alcaline, d'après Sallet, suivant notre échelle habituelle.

(longueur d'onde moyenne,  $542 \lambda$ ), la quatrième entre *b* et F (longueur d'onde moyenne  $500 \lambda$ ), très large et noire <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> SAILLET. — *Loc. cit.*, p. 545, 546.

3° Dans une solution acide proprement dite la coloration est rouge rubis, le spectre ne présente plus que trois bandes d'absorption, la première à gauche de D, noire et étroite (centre à 595  $\lambda$ , la seconde très droite, centre à 572  $\lambda$ , et la troisième large, très noire et bien limitée à 550  $\lambda$ . Une propriété fort importante de l'urospectrine est sa transformation par l'action prolongée d'eau ammoniacale chauffée à l'ébullition en un pigment qui est analogue par ses propriétés spectrales avec l'hémochromogène ou hématine réduite, mais qui cependant ne contient pas de fer. Ce pigment que M. Sallet appelle hémochromogène sans fer présente cette remarquable particularité qu'il reproduit facilement l'urospectrine par l'action de l'acide chlorhydrique bouillant ou de l'acide sulfurique.

Pour M. Sallet, l'urospectrine est le pigment normal de l'urine, mais il n'existerait à l'état naturel qu'en partie, les trois quarts de ce pigment restant dans l'urine à l'état de chromogène qui est démontré par l'action de la lumière solaire sur les solutions dans l'éther acétique. Il se forme dans ces solutions, alors qu'on en a enlevé l'urospectrine, une nouvelle quantité de ce pigment aux dépens de son chromogène, de même que la lumière solaire reproduit l'uro-



biline aux dépens du chromogène de cette substance. La quantité d'urospectrine contenue dans l'urine normale a été calculée approximativement par M. Sallet en se basant sur ce fait que dans une solution d'urospectrine à  $\frac{1}{22000}$ , on voit encore la plus importante des trois bandes du spectre acide à une épaisseur de 15 millimètres. La quantité normale en vingt-quatre heures varierait entre 2 et 11 milligrammes.

Quelle est l'origine de l'urospectrine, et quels sont ses rapports avec l'urobiline ou avec les matières colorantes du sang, ou avec l'hydrobilirubine ? Les caractères spectroscopiques présentent une grande analogie avec ceux de l'urobiline, surtout l'urobiline pathologique, et avec l'urobématoporphyrine, mais il y a dans les divers spectres obtenus par les réactions des différences trop marquées pour qu'on puisse actuellement établir les relations qui existent entre l'urospectrine et ces divers pigments. L'action de la lumière, de l'air, des oxydants, cependant, semblerait démontrer qu'ils peuvent être des degrés variables d'oxydation d'une même substance chromogène ou de plusieurs chromogènes ayant leur origine soit dans le sang, soit dans les résorptions récrémentitielles provenant de la rate, du foie ou même des reins et autres glandes.

**Uroérythrine.** — F. Simon a donné le nom d'uroérythrine à la substance qui colore en rouge brun les dépôts sédimentaires d'urates que l'on rencontre surtout dans les urines des fébricitants. Heller qui, en 1854, en fit une étude la plus complète indiqua son mode d'extraction et ses principaux caractères. Thudichum, en 1875, en étudia les réactions spectrales, Mac-Munn puis Quincke, et plus récemment A. Garrod, et A. Riva ont également étudié cette matière colorante au point de vue de ses réactions chimiques et spectroscopiques, et des conditions de sa présence dans l'urine.

*Mode de préparation.* — Thudichum a extrait l'uroérythrine des sédiments rouges (dits briquetés) d'urates par l'alcool bouillant, c'est le procédé le plus simple et qui est applicable même à l'étude de la matière colorante des cristaux d'acide urique obtenus par l'action de l'acide chlorhydrique ajouté à l'urine, dans le procédé d'analyse de l'acide urique bien connu ; malheureusement, l'uroérythrine est fort peu soluble, même dans l'alcool bouillant, et l'on n'en peut obtenir ainsi, que de faibles quantités.

Riva <sup>(1)</sup>, pour préparer des solutions pures

---

<sup>(1)</sup> RIVA. — *Ancora della urocitrina*. Cz. Bibliogr. p. 190.



d'uroérythrine, précipite les urates par le refroidissement dans la glace, il lave le précipité à l'eau glacée, puis à l'alcool absolu, au chloroforme et l'éther pour éliminer l'urobiline, et alors les urates sont dissous dans l'eau chaude dont ils sont extraits par l'alcool amylique pur. Les solutions ainsi obtenues ont une coloration rouge cerise et présentent les réactions spectroscopiques caractéristiques de l'uroérythrine (voir p. 55 et p. 56). Lorsque l'on veut simplement constater la présence de l'uroérythrine, dans l'urine, on traite celle-ci par l'acétate neutre de plomb, en petite quantité, le dépôt prend une coloration rouge saumon qui, examinée avec un éclairage oblique donne au spectroscope les deux bandes dans le vert, caractéristiques de l'uroérythrine. Les *caractères chimiques* de cette matière colorante sont peu connus, il nous suffit d'en retenir les suivants. L'uroérythrine est peu soluble dans l'alcool, le chloroforme, plus soluble dans l'alcool amylique pur où ses solutions concentrées ont une coloration rouge cerise (distincte de la coloration rouge orangé de l'urobiline).

La soude et la potasse caustiques donnent, à l'uroérythrine, une coloration verte caractéristique (Mester). Les solutions s'altèrent rapidement à l'air et alors la coloration s'atténue.

L'ammoniaque n'altère que très lentement l'uroérythrine mais la décoloration produite persiste si l'on neutralise l'ammoniaque. Cette réaction la différencie de l'urobiline qui est, au contraire, facilement modifiée par l'ammoniaque, mais reprend ses caractères après la neutralisation de l'ammoniaque. L'uroérythrine contient du fer (Tyson).

Les réactions *spectroscopiques* indiquées par divers auteurs ne sont pas tout à fait identiques. C'est ainsi que Thudichum décrit deux bandes d'absorption très étroites à droite et à gauche de F dans le vert bleu, et très rapprochées de cette raie, puis une troisième bande plus pâle à gauche de la raie E qu'elle touche ; ces bandes disparaissent par l'action de l'ammoniaque.

Mac-Munn indique comme caractéristiques deux bandes étroites mais nettement perceptibles entre F et E, c'est-à-dire dans le vert et le bleu cyané, Riva décrit le même spectre, Garrod et Zoja ont donné la position des deux bandes, l'une de 546 à 520  $\lambda$ , la seconde de 506 à 481  $\lambda$ .

Jusqu'à présent, on ne connaît pas l'origine de l'uroérythrine et l'on n'en a pas découvert le chromogène. Mester seul suppose qu'elle provient d'un chromogène identique à celui qui produit le pigment Skatol, et dont l'oxydation constitue



rait l'uroérythrine. La plupart des chimistes la considèrent comme un dérivé de l'urobiline et, par suite, comme un produit de transformation de l'hémoglobine ou plus directement de la bilirubine. En dehors de Neubauer, Riva et Gautrelet, la plupart des urologistes déclare ce produit comme anormal, Gautrelet a conclu de ses recherches que l'uroérythrine entrerait pour un tiers de la matière colorante de l'urine, il a même institué un procédé de dosage de l'uroérythrine qui repose sur les réactions spectroscopiques de l'uroérythrine, mais il admet comme caractéristiques de ce pigment deux bandes à droite et à gauche de D, qu'aucun autre auteur n'a décrites, et qui ressemblent à celles du spectre de l'urobiline pathologique ou bien à la superposition du spectre de l'indican à celui de l'urobiline.

L'étude des dépôts urinaires montre que la coloration des cristaux d'acide urique, des urates c'est-à-dire du *sedimentum lateritium* est due non seulement à l'uroérythrine mais aussi à d'autres pigments urinaires.

**Urohématoporphyrine.** — Mac-Munn, en 1880, a, le premier, constaté dans l'urine de malades atteints de rougeole ou de péritonite la présence d'un pigment ayant les caractères de

l'hématoporphyrine ou hémochromogène sans fer. Depuis, des observations nombreuses, les travaux de Lenobel, de Nencki et Sieber, Olof Hammarsten, Garrod, Stokvis, Zoja et Riva, etc., ont fait connaître les conditions de sa production.

Mac-Munn a d'abord extrait l'urohématoporphyrine de l'urine par le même procédé qu'il emploie pour l'urobiline, on peut aussi se servir du procédé de Méhu ou d'autres procédés servant à isoler l'urobiline. Pour la recherche clinique de l'urohématoporphyrine dans l'urine, Riva et Zoja emploient un procédé qui est basé sur l'action de l'alcool amylique pur. L'extrait alcoolique séparé de l'urine donne un spectre combiné d'urobiline et d'hématoporphyrine, dans lequel la bande caractéristique de l'urobiline en F et celle de l'hématoporphyrine qui est placée avant F sont élargies. Si on ajoute du chlorure de zinc en solution ammoniacale à l'extrait alcoolique. Il se fait un précipité. Le liquide qui s'en sépare donne les bandes de l'urobiline en solution de chlorure de zinc ammoniacale, le précipité donne la bande intense de l'hématoporphyrine. Suivant Mac-Munn et d'autres observateurs, l'urohématoporphyrine en solution acide présente un spectre caractéristique



formé de quatre bandes ; une faible bande avant la ligne D, une seconde plus foncée entre D et E, une très faible obscurité entre ces deux bandes et enfin une quatrième bande entre *b* et F analogue à celle de l'urobiline. Isolée par le chloroforme et redissoute dans l'alcool rectifié et neutre, elle donne le spectre de cinq bandes représenté

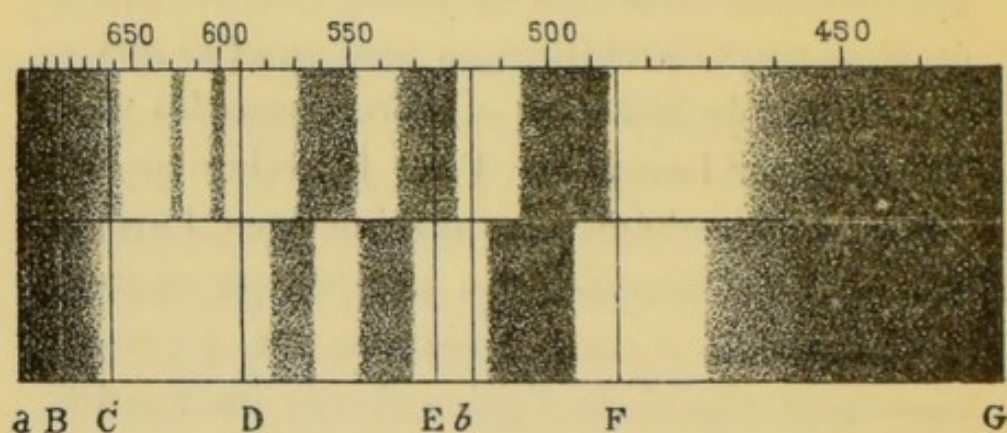


Fig. 5. — Spectres de l'urohématoporphyrine.

*Spectre supérieur.* — Solution alcoolique neutre.

*Spectre inférieur.* — Solution alcoolique ammoniacale avec chlorure de zinc. (D'après Mac-Munn et suivant notre échelle).

par la *fig.* 5. Par l'action du chlorure de zinc et de l'ammoniaque, on observe une légère fluorescence verte, la bande entre *b* et F devient plus étroite et s'avance vers la raie E, on perçoit aussi deux bandes entre D et E.

En somme, l'urohématoporphyrine a une composition chimique identique à l'hématoporphyrine, elle semble donc liée à la résorption interne

de l'hématoporphyrine et a son élimination par les reins. Or, Nencki et Sieber ont démontré qu'on peut préparer l'hématoporphyrine par l'action du zinc et de l'acide sulfurique, de l'amalgame de sodium et d'autres agents réducteurs; il est donc naturel d'attribuer à ce pigment une origine hématique et, par conséquent, l'on ne s'étonne pas de le retrouver dans les états morbides où la fonction hématopoïétique et la destruction du sang sont le plus prononcés. Tels sont le rhumatisme, la cirrhose, la rougeole, la fièvre typhoïde. Mais c'est surtout aussi dans des cas d'usage plus ou moins exagéré de sulfonal, ou même de trional, que l'*hématoporphyrinurie* a été observée, et enfin dans les coliques de plomb, ou à la suite d'hémorrhagies intestinales.

Stokvis a démontré expérimentalement que chez les animaux intoxiqués par le sulfonal ou par le plomb l'hématoporphyrinurie est en rapport avec les extravasations sanguines, ou les hémorrhagies stomacales ou intestinales. Enfin l'hématoporphyrinurie peut être produite par la seule alimentation avec la viande chez le lapin. Il semble donc que c'est principalement dans le tube digestif que se produisent les altérations de l'hémoglobine qui ont pour consé-



quence l'élimination de l'hématoporphyrine par les reins. Il est néanmoins important de constater que celle-ci peut être excrétée sous la forme d'un chromogène particulier.

**Uroroséine.** — Cette matière colorante de l'urine qui est accidentelle et probablement liée à un état pathologique a été observée et décrite par Nencki et Sieber <sup>(1)</sup>, et Rosin <sup>(2)</sup> l'a retrouvée dans l'urine du cheval et des bovidés. Elle a pour origine un chromogène spécial que Rosin a extrait de l'urine de ces animaux, et elle peut être extraite de l'urine additionnée d'acide chlorhydrique ou d'acide nitrique, c'est elle qui produit la coloration rose qu'on observe dans cette réaction. On l'isole en solutions au moyen de l'alcool amylique. Ces solutions présentent une coloration rouge dans l'eau, l'alcool, l'acide amylique ; mais elle n'est pas soluble dans l'éther, le chloroforme, ni le sulfure de carbone.

La solution alcoolique offre un spectre particulier, constitué par une bande d'absorption

---

<sup>(1)</sup> NENCKI et SIEBER. — *Journ. f. prakt. Chemie*, t. XXXV, p. 387, 1882.

<sup>(2)</sup> ROSIN. — *Centralblatt f. klin. med.*, 1889, p. 150.

— *Deutsch med. Wochens.*, 1879, n° 3 et *Jahr. f. Thierch.*, 1893, p. 585.

dans le vert, presque au milieu de la plage D à E. En solution dans l'alcool amylique, la roséine présente cette bande qui peut s'étendre au-delà de E suivant la concentration, et même une bande à droite et à gauche de F analogue à celle de l'urobiline.

Cette réaction, semblable à celle du rouge d'indigo, s'en distingue par ce que l'uroroseine n'est pas soluble dans l'éther. De plus, en plongeant de la laine incolore dans ses solutions, la matière colorante peut être recueillie et redissoute dans l'alcool acidulé. En dehors de la présence de l'uroroseine dans des urines pathologiques, l'on ignore son origine réelle, ainsi que le mode de formation et le rôle de son chromogène, peut-être serait-il possible de l'identifier avec les autres chromogènes de l'urine.

**Dépôts sédimentaires de l'urine.** — Il y a intérêt à examiner les dépôts de l'urine avec le spectroscope; à cet effet, on recueillera les sédiments soit sur un filtre, soit sur un godet de porcelaine, après avoir décanté l'urine. Le *sedimentum lateritium* peut ainsi être examiné directement, ou bien en déposant les sédiments sur une lame de verre, on en fera l'examen microscopique et l'examen spectroscopique à la lumière transmise. Pour les dépôts obtenus sur



les filtres, on les dessèchera et on les rendra transparents par de la glycérine, de l'huile, ou par du vernis, qui rendent le papier translucide. Enfin si l'on dispose d'une quantité suffisante de sédiments, on peut extraire les pigments par les procédés qu'ils comportent.

On recherchera, en premier lieu, les colorations dues aux dérivés de l'hémoglobine, l'hématine, l'hématoïdine.

C'est principalement dans les éléments cellulaires, dans les débris de desquamation des cylindres rénaux, dans certaines concrétions originaires des reins ou des calices, qu'on retrouvera les dérivés des pigments sanguins, et quelquefois des pigments plus difficiles à définir, comme dans la mélanurie d'origine cancéreuse ou d'origine paludéenne, ou enfin les pigments biliaires. Il est aussi fort intéressant de rechercher dans les sédiments, les matières colorantes de l'urine, normales ou pathologiques, qui sont, en général, fixées dans les cristaux d'acide urique ou dans les dépôts d'urates. En effet, l'on sait depuis bien longtemps, Wetzlar (1821) et Duvernoy (1835), que l'acide urique pur est incolore, mais que l'acide urique cristallisé spontanément dans l'urine, ou même recueilli après l'addition d'acide chlorhydrique pour la pesée,

présente une coloration variant du jaune au brun et même au rouge rubis. Cette coloration est due à la fixation de matières pigmentaires pendant la cristallisation, et l'on peut s'en convaincre facilement en colorant l'urine par l'acide picrique, ou par du bleu de méthyle, ou autres matières colorantes; les cristaux d'acide urique prennent alors les teintes les plus variées. Lorsqu'on examine les dépôts urinaires sans réactifs l'on rencontre divers pigments, nous avons indiqué le moyen d'extraire l'uroérythrine (p. 53) des dépôts rosés de l'urine, mais on peut retrouver d'autres pigments.

C'est ainsi que Archibald Garrod <sup>(1)</sup> distingue quatre groupes de dépôts d'acide urique pigmentés.

1° Les dépôts rouges, couleur du poivre de Cayenne; 2° les jaunes, ou de couleur fauve; 3° les dépôts bruns ou noirs produits par des pigments anormaux; 4° les dépôts bruns produits par les acides minéraux dans l'urine. Or, tous les dépôts devraient leur teinte fondamentale à l'*urochrome*. Les autres pigments sont surajoutés. Tous ces pigments ont une influence sur la forme des cristaux.

---

(1) ARCHIBALD GARROD. — *Journ. Pathol. and Bacteriol.*, novembre 1894, p. 100.



L'acide urique coloré par l'uroérythrine est rose et présente la forme de « coquilles de sole » ; ce pigment offre une grande affinité pour l'acide urique. L'urobiline n'a pas d'action sur la forme des cristaux ; et elle ne paraîtrait avoir une action colorante qu'à l'état de chromogène ou d'urochrome, suivant Garrod.

Les dépôts d'urates contiennent toujours de l'urochrome, mais peuvent être privés d'uroérythrine. L'urochrome néanmoins colore non seulement tous les urates mais forme la partie fondamentale de la coloration des cristaux d'acide urique. Enfin les pigments biliaires colorent les cristaux d'acide urique en brun ou en noir. Les cristaux précipités par les acides minéraux sont bruns par suite de l'action de ces réactifs sur l'urochrome. Il y aurait grand intérêt à compléter ces recherches par l'étude spectroscopique des calculs urinaires. Je ne sache pas qu'on ait observé autre chose que la présence de l'hématoidine dans certains calculs, les calculs d'oxalate de chaux en particulier, on a simplement décrit les colorations jaunes ou brunâtres de calculs d'acide urique, dues comme dans les dépôts et concrétions aux pigments urinaires et enfin la coloration jaune des calculs de xanthine qui ont été si rarement observés. Il y aurait à faire

dans cette voie des recherches nouvelles et pratiquées méthodiquement.

**Matière colorante du sang dans l'urine.**  
**Hématurie.** — L'hémoglobine et ses dérivés se rencontrent dans l'urine qui contient du sang, que l'hématurie provienne de la vessie, de l'urètre, ou des reins, d'une tumeur ou de déchirure causée par un calcul, ou d'une déchirure de la prostate, elle est constituée par du sang plus ou moins vermeil ou donnant une couleur gelée de groseille, et plus ou moins foncée ou mélangée de caillots. Lorsque l'hématurie est abondante, il est facile de reconnaître la présence du sang, mais lorsque la quantité de sang est très faible, la coloration de l'urine devient moins prononcée, et alors il y a intérêt à apprécier la quantité de sang approximativement contenue dans l'urine. C'est principalement à la fin des crises d'hématuries, et surtout dans la congestion rénale qu'il importe de suivre les variations progressives de la quantité de sang.

Un simple examen avec le spectroscope à vision directe de l'urine dans le vase de faïence ou le verre qui la contient, permet déjà de reconnaître des quantités très minimes d'hémoglobine, et l'examen microscopique démontre aussi des globules rouges du sang. Pour suivre la pro-



gression ou la cessation du passage du sang dans l'urine, il suffit de noter comparativement à chaque examen à quelle épaisseur du liquide on voit apparaître les deux bandes caractéristiques. Pour un examen plus approfondi, on peut se servir de l'uroscope spectroscopique ou d'un spectroscope à épaisseur variable (Ch. VI) et enfin, dans le laboratoire, d'un spectrophotomètre.

L'oxyhémoglobine se conserve longtemps dans l'urine acide, mais elle se transforme facilement en hémoglobine réduite dans les urines alcalines renfermant du mucus, du pus, ou des microbes de la putréfaction et de la fermentation ammoniacale. Il peut, enfin, se produire de la méthémoglobine pendant le séjour dans la vessie. Toutes les conditions de ces phénomènes ne sont pas encore suffisamment connues, il y aurait grand intérêt à en faire une étude spéciale.

**Hémoglobinurie. Méthémoglobinurie.** — La matière colorante du sang et ses dérivés peuvent se rencontrer dans l'urine, sans qu'on puisse constater la présence de globules rouges du sang. On a désigné sous le nom d'*hémoglobinurie* cet état de l'urine. Cette expression plus générale doit être préférée à celles de méthémoglobinurie et d'hématinurie qui indiquent des modifications

plus spéciales qui, d'ailleurs, peuvent se rencontrer dans les diverses phases de l'hémoglobinurie.

Au point de vue pathogénique, on peut diviser cet état symptomatique des urines en hémoglobinurie symptomatique d'altérations du sang, produites expérimentalement, ou par l'action de substances toxiques, et en hémoglobinurie idiopathique ou paroxystique.

Nous avons montré dans notre premier aide-mémoire (*Spectroscopie du sang*) quelles sont les conditions nombreuses dans lesquelles l'hémoglobine se transforme en méthémoglobine, et, par suite, dans son passage à travers les reins, celle-ci se mélange avec l'urine. Nous devons renvoyer au § 22, p. 136 et 137, ainsi qu'à notre article « Hémoglobinurie » du Dictionnaire encyclopédique, ceux qui voudraient approfondir le sujet. L'examen des urines, dans ces cas, doit toujours être associé à l'examen microscopique et aussi à l'examen du sang dans les vaisseaux, et, enfin, à l'étude spectroscopique du sérum telle qu'elle est décrite dans mon second aide-mémoire (*Spectroscopie du sérum*, p. 69 à 75).

Il est donc essentiel de se familiariser avec les réactions spectroscopiques des dérivés de l'oxy-hémoglobine, car c'est une des applications les



plus remarquables de la spectroscopie, que l'étude de ces états du sang que la chimie n'avait pu définir ni classer alors que l'observation clinique les faisait constater sans les préciser.

L'*hémoglobinurie idiopathique*, ou hémoglobinurie paroxystique, ou hémoglobinurie *a frigore* est caractérisée par l'apparition d'hémoglobinurie à des intervalles plus ou moins éloignés, et sous forme d'accès accompagnés de divers symptômes généraux, frissons, élévation du pouls, etc., ceux-ci se produisent dans diverses conditions et plus particulièrement sous l'action du froid, de telle façon qu'on peut expérimentalement déterminer un accès par le refroidissement, même léger, dans les périodes de crises.

Elle s'observe plus particulièrement chez les syphilitiques, les rhumatisants, dans la cachexie palustre.

Quelle qu'en soit l'origine, longtemps la cause pathogénique en a été fort discutée. Actuellement, il semble démontré que l'hémoglobinurie est due à la destruction des globules rouges, à la dissolution de l'hémoglobine dans le sérum du sang et, enfin, au passage de la matière colorante dans les reins où elle se transforme plus ou moins. Cette altération des globules, qui les rend moins résistants, ou sépare l'hémoglobine,

est appelée *cythémolyse*. Mais nous n'avons encore que des notions imparfaites sur la substance cythémolytique ou destructive des globules. Je n'insiste pas sur l'étude clinique de l'hémoglobinurie paroxystique, mais je décrirai les caractères particuliers de l'urine.

Suivant la période de l'accès, l'urine présente des colorations variables, la coloration rouge n'existe pas constamment, elle peut être plus foncée, couleur de Porto, de suie, de porter, café, chocolat, ou plus spécialement une gamme de coloration ascendante du rouge au brun rouge et brun noir et une gamme descendante inverse du noir au rouge, et au rouge jaune. Ces colorations sont dues à la quantité plus ou moins grande de l'oxyhémoglobine et aux proportions du mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine et peut-être aussi, mais bien plus rarement, d'hématine.

L'examen spectroscopique montrera les réactions si nettement caractéristiques des deux bandes de l'oxyhémoglobine, des trois bandes de la méthémoglobine, ou celles de l'hématine.

La marche de l'accès n'est pas toujours régulière, la série des tons n'est pas toujours complète, la coloration foncée peut apparaître d'emblée.



Il est intéressant d'examiner l'urine dès le début de l'accès, c'est en procédant ainsi que, dans un cas observé avec le docteur Salle, (Cz. p. 173), en faisant uriner le malade de trente en trente minutes, je n'ai constaté que de l'hémoglobine dans les deux premières heures et ce n'est qu'au sixième examen que la méthémoglobine est apparue ; ce fait démontre péremptoirement que la méthémoglobine était formée dans les reins, et non dans la vessie où l'urine ne pouvait séjourner.

Il est donc certain que l'hémoglobinurie vraie précède la méthémoglobinurie, mais il est possible aussi que les altérations de la matière colorante se prononcent sous l'influence de l'urine, quand celle-ci séjourne dans la vessie et est chargée de diverses substances, d'origine pathologique, par exemple des oxalates, ou des débris de tubes plus ou moins altérés. L'examen microscopique doit, naturellement, être pratiqué avec la plus grande attention. L'examen spectroscopique du sérum montrera la présence de l'oxyhémoglobine dissoute, on retrouvera celle-ci dans la sérosité des vésicatoires.

*Hématinurie.* — On rencontre rarement l'hématine dans les urines, où elle est à l'état d'hématine acide. Huppert l'a observée dans

un cas d'empoisonnement par ingestion d'acide sulfurique, elle a été trouvée dans des cas de cancer de la vessie par Hoffmann et Ultzmann, on l'a signalée dans divers cas d'empoisonnements (hydrogène arsénié et autres agents toxiques), mais quelques doutes subsistent sur un certain nombre de ces faits, parce qu'il est assez facile de confondre l'hématine acide avec la méthémoglobine. Cependant le spectre de l'hématine acide présente cinq bandes caractéristiques, dont deux dans le rouge, une plus faible dans le jaune, et deux plus larges dans le vert et le bleu, celles-ci se réunissent par une obscurité de la plage intermédiaire (<sup>1</sup>). Dans tous les cas, on évitera toute confusion par l'addition d'un agent réducteur (sulfure d'ammonium) qui transforme l'hématine acide en hématine réduite ou hémochromogène, avec deux bandes dans le jaune et dans le vert. Cette réaction est différente de celle que le même agent réducteur (sulfure d'ammonium) produit sur les solutions de méthémoglobine, qu'il transforme en hémoglobine réduite, dont la bande caractéristique occupant presque toute la plage située entre D et E

---

(<sup>1</sup>) HÉNOQUE (A). — *Spectroscopie biologique*, I. *Spectroscopie du sang*. Dérivés de l'Hémoglobine, p. 147, fig. 17.



ne peut être confondue avec celles de l'hémochromogène. De même en ajoutant de l'ammoniaque ou de la potasse aux solutions de méthémoglobine et d'hématine, on obtient des spectres très différents de la méthémoglobine en solution alcaline et de l'hématine en solution alcaline. Ces diverses réactions ont été étudiées avec grand soin par Bertin-Sans (*Études sur la méthémoglobine*).

**Pigments biliaires dans l'urine.** — Les urines dites ictériques ont une coloration jaune brunâtre, verdâtre, avec un certain degré de dichroïsme, qui est due à la présence des pigments biliaires que l'on reconnaît facilement en filtrant l'urine et en examinant la coloration du filtre, ou celle de quelques gouttes de l'urine, déposées sur du papier buvard blanc. L'examen spectroscopique direct montre alors une obscurité du spectre à partir de F, c'est-à-dire du bleu jusqu'au violet ; mais ce spectre n'est pas caractéristique, et il faut avoir recours à la réaction de Gmelin, qui présente des spectres caractéristiques.

Les acides biliaires seront aussi recherchés par la réaction de Pettenkofer dont les spectres sont également caractéristiques.

Le chapitre consacré à la spectroscopie de la

bile dans le 2<sup>e</sup> aide-mémoire de Spectroscopie biologique nous dispense d'insister sur ce sujet.

Les **colorations accidentelles de l'urine** n'ont pas, à notre connaissance, été l'objet de recherches spectroscopiques, cette lacune devrait être comblée ; j'ai recherché la matière colorante de la santonine dans une urine fortement teintée, en rouge orangé chez un enfant ayant absorbé de ce vermifuge, j'y ai trouvé une bande située en *b* et *F* dépassant celle-ci, elle n'est pas caractéristique car elle ressemble à celle de l'urobiline. Mais elle s'accompagne d'obscurité dans le bleu, l'indigo et le violet, ce qui rapproche ce spectre de celui des urines ictériques.

---



## CHAPITRE III

### SPECTROSCOPIE DES PRODUITS MÉDIATS

De Blainville a désigné sous ce nom « les produits de l'organisme résultant du mélange de substances introduites dans l'économie avec des liquides sortis de celle-ci, mélange dans lequel les substances qui y concourent ont subi des modifications particulières qui en font des espèces de produits nouveaux<sup>(1)</sup> ».

Les produits médiaux sont : le méconium, le chyle et les excréments ou fèces.

**Méconium.** — Le méconium est le produit contenu dans l'intestin du fœtus qui, s'accumulant à partir de la fin du troisième mois de la gestation, est expulsé après la naissance, quelquefois même pendant l'accouchement.

---

(1) DE BLAINVILLE. — *Cours de physiologie*, Paris, 1888, t. II, p. 15 et t. III, p. 340.

Il est caractérisé par sa coloration brun-verdâtre et sa consistance visqueuse. Du quatrième au sixième mois, la coloration du méconium est d'une teinte jaune claire, et du cinquième au sixième mois, on y constate la matière colorante de la bile. Du septième au neuvième mois, et à la naissance, le méconium est vert foncé dans le cœcum et aussi dans l'intestin.

Le méconium, à la naissance, est essentiellement constitué par un mucus visqueux contenant les produits de la desquamation intestinale, c'est-à-dire des cellules épithéliales cylindriques plus ou moins colorées par des pigments biliaires, et surtout des grains ou grumeaux de matière colorante de la bile, bien décrits par Robin (*Traité des humeurs*, p. 318). L'action de l'acide nitrique sur ces granules est analogue à la réaction de Gmelin, mais la couleur rouge domine. On peut donc examiner avec le spectroscope, cette réaction dans le méconium ; la présence des acides biliaires a été mise en doute, mais on a pu y constater l'existence de l'acide taurocholique.

En somme, ainsi que l'a dit Mott <sup>(1)</sup>, le méco-

---

(1) MOTT. — *Practitioner Aug.*, 1890.



nium ne serait que de la bile concentrée et, par conséquent, on y recherchera avec les procédés spectroscopiques et les réactifs de la bile, les pigments biliaires, la bilirubine, la biliverdine, les acides biliaires.

En outre, l'analyse spectroscopique a démontré l'absence de la stercobiline et de l'hydrobilirubine et de l'urobiline dans le méconium, alors qu'on peut retrouver cette substance dans les excréments des enfants, très peu de temps après la naissance, dès qu'ils ont pris une petite quantité de lait.

Enfin, Hoppe-Seyler a extrait du méconium une matière colorante pourprée, présentant une faible bande d'absorption à gauche de D, une autre plus large et plus foncée entre D et E, ce pigment serait un produit d'oxydation de la bilirubine.

L'étude spectroscopique du méconium mérite d'attirer l'attention des observateurs au point de vue médico-légal autant qu'au point de vue obstétrical.

Le **chyme** ou produit de la digestion contenu dans l'intestin n'a pas été jusqu'à présent l'objet d'études spectroscopiques, les différences de coloration qu'il offre sont déterminées par la nature des aliments ou substances ingérées ; il y aura

donc utilité très grande de rechercher dans les expertises médico-légales, les réactions spectroscopiques qui pourraient caractériser des matières colorantes particulières dans le chyme.

**Spectroscopie des excréments.** — Les matières fécales sont constituées par les résidus des aliments non digérés, mélangés aux produits de sécrétion ou d'excrétion du tube digestif, leur coloration est due à la présence de la bile et des produits alimentaires ; elle est modifiée par la nature des aliments, et par diverses conditions pathogéniques. C'est ainsi que la coloration habituellement brune, plus ou moins foncée, est plus prononcée encore avec le régime carné, devient brun jaunâtre avec le régime mixte de viande et de féculents, verdâtre par le régime herbacé.

Dans la rétention biliaire et, en général, lorsque la bile n'est pas excrétée dans l'intestin, les selles prennent une coloration grisâtre, terreuse, jaune mastic.

Les excréments peuvent renfermer des pigments d'origine alimentaire, très variables, en particulier les matières colorantes du vin, naturelles ou artificielles, et d'autres pigments, la chlorophylle, par exemple, à la suite de l'ingestion abondante de végétaux, épinards, etc.



Les selles rouges, noires, d'aspect de suie ou de marc de café, renferment des pigments sanguins, dans des cas pathologiques, comme le *Méléna*, où le sang provenant de l'estomac ou épanché dans le tube digestif est plus ou moins altéré par les liquides gastro-intestinaux et présente les modifications de la méthémoglobine ou de l'hématine.

On retrouve même, à l'état normal, à la suite de l'ingestion de boudin, de l'hématine acide.

Dans tous les cas, il est facile de constater, avec le spectroscope, les caractères de ces dérivés de l'hémoglobine et de les distinguer des diverses colorations brunâtres ou noirâtres dues aux aliments ou à certains médicaments, les sels de bismuth, le calomel, surtout si l'on combine les examens spectroscopiques avec quelques réactions chimiques simples, telles que l'emploi d'un acide, d'une base ou du sulfure d'ammonium.

**Stercobiline.** — Van Lair et Masius ont décrit sous ce nom un pigment qu'on extrait des matières fécales, où il est normalement contenu en quantités <sup>(1)</sup> variables, et où il représente

---

(1) VAN LAIR UND MASIUS. — *Centralblatt. f. med. Wissensch.*, 1871, n° 24.

MAC-MUNN. — *Clinical Chemistry of Urine*, London, 1889, p. 107.

DISQUÉ. — *Zeitschr. phys. Chemie*, II, 259.

l'excrétion des pigments biliaires avec les transformations que leur ont fait subir l'intestin.

L'extraction de la stercobiline se fait en traitant les matières fécales par l'alcool mélangé d'acide sulfurique (17 parties d'alcool et 3 d'acide sulfurique). L'extrait étendu d'eau est agité avec du chloroforme qui absorbe le pigment, il est séparé dans un entonnoir à robinet, soutiré et isolé par l'évaporation.

On obtient aussi la stercobiline par le procédé que Mac-Munn emploie pour préparer l'urobiline, c'est-à-dire le mélange des fèces avec l'acétate et le sous-acétate de plomb, l'action de l'alcool mélangé d'acide sulfurique, enfin la séparation par le chloroforme (p. 17).

J'ai employé ce procédé de préférence, pour extraire la stercobiline des selles des nourrissons, il est d'une application pratique et moins répugnant, parce qu'il suffit de laver les couches dans le précipité d'acétate de plomb, puis de filtrer pour obtenir des quantités suffisant à l'analyse, il est d'ailleurs utilisable pour les fèces, en général; les selles vertes comme les selles jaunes renferment la stercobiline. Enfin, Méhu emploie le sulfate d'ammoniaque acidulé par l'acide sulfurique (2 %) qu'il ajoute en forte quantité à la bouillie des fèces triturées dans l'eau, et filtrées.



Ce sont toujours les mêmes moyens qui servent à isoler l'urobiline de l'urine ; et l'on ne s'étonnera pas que, pour plusieurs chimistes (Mac-Munn, Disqué), il y ait sinon identité du moins analogie et relation intime entre la stercobiline et l'urobiline.

La solution chloroformique présente une coloration plus ou moins foncée suivant le degré de concentration, ou l'épaisseur examinée ; variant du jaune au jaune orangé et au brun rougeâtre, elle est légèrement dichroïque, présentant un certain degré de fluorescence verdâtre. Comme pour l'urobiline, l'action de l'ammoniaque, puis du chlorure de zinc, accentue la fluorescence, donnant une coloration verdâtre, puis brunâtre.

Un certain nombre d'auteurs donnent, comme caractéristique spectroscopique de la stercobiline, un spectre qui serait analogue à celui de l'hydrobilirubine, c'est-à-dire une bande très foncée, large, entre B et F, et diffuse à ses deux extrémités, d'autres ont décrit en outre une bande entre D et E moins foncée, qui se divise en deux parties dans les solutions faibles, ce qui est le spectre identique à celui de l'urobiline pathologique ; enfin, les solutions ammoniacales, traitées par le chlorure de zinc, présentent une quatrième bande du côté du rouge.

Ce spectre de quatre bandes différencierait la stercobiline de l'hydrobilirubine, d'autant plus qu'on observe aussi certaines différences dans le spectre produit par la soude, l'ammoniaque seule, le chlorure de zinc seul. L'on a aussi objecté aux divers modes de préparation, qu'ils ne présentaient pas la certitude absolue de l'isolement d'un pigment unique.

J'ai étudié avec soin les réactions spectroscopiques de la stercobiline, et j'ai pu constater que la plupart des différences indiquées dans la description du spectre de la stercobiline, tiennent à la concentration des solutions observées. En effet, avec une solution très concentrée à forte épaisseur ayant la couleur de vin de Porto, l'on observe trois plages d'absorption en larges bandes d'absorption, la première dans le rouge jusqu'à B, la seconde au niveau de D, commençant à gauche de D vers  $630\text{ }\mu$  et s'étendant dans le vert d'abord très peu foncée puis progressivement plus accentuée au niveau de E, puis diminuant d'intensité et rejoignant une bande très noire s'étendant de b à F. Au-delà de F, le bleu, l'indigo et le violet ne sont pas complètement éteints.

A une épaisseur moindre, c'est-à-dire avec une concentration dix fois moindre. On observe une bande foncée dans le rouge jusqu'à C; la bande



en D est divisée en deux parties, l'une à gauche très peu foncée vers 630 à 600  $\lambda$ , l'autre à droite de 580  $\lambda$  environ, très faiblement obscure, mais s'étendant jusqu'à 530  $\lambda$ , enfin une bande noire très accentuée de *b* à F, 517 à 586  $\lambda$ . Par l'action

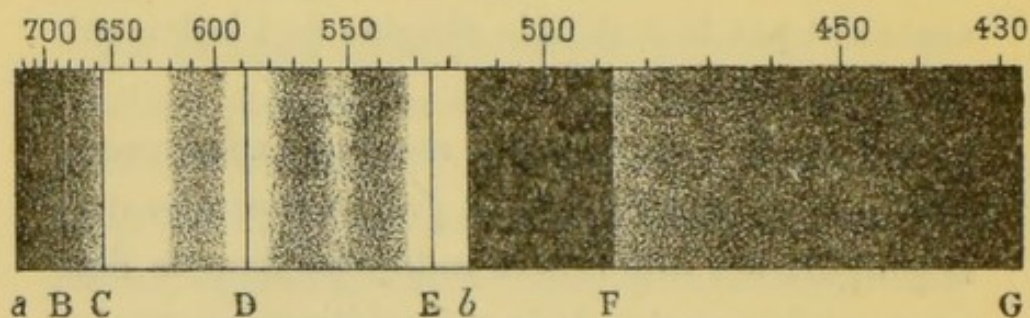


Fig. 6. — Spectre de la stercobiline.

de l'ammoniaque, puis du chlorure de zinc, on observe aussi quatre bandes ou plages avec une concentration moyenne, présentant une couleur vin de Madère.

**Origine, transformations et rôle de la stercobiline.** — La stercobiline se rencontre dans les fèces de l'homme à toutes les époques de la vie, j'ai constaté qu'elle présente les mêmes caractères chez l'adulte et chez des nourrissons, dans les premiers mois de l'allaitement, comme plus tard. Vierordt<sup>(1)</sup>, au moyen de son spectrophotomètre, a déterminé la quantité de stercobi-

(1) VIERORDT. — *Jahresb. f. Thier. Chem.*, 1875, p. 152.

line renfermée dans les fèces en vingt-quatre-heures. Elle peut atteindre 0<sup>gr</sup>,36.

C'est un pigment normal des résidus de l'intestin qui leur donne leur couleur spéciale, il n'a pas pour origine les aliments puisqu'il manque dans les selles décolorées, observées chez les ictériques atteints de rétention biliaire. Sa composition chimique, ses caractères spectroscopiques autorisent à le rapprocher de l'hydrobilirubine et de l'urobiline, c'est-à-dire des produits d'oxydation plus ou moins prononcée de la bilirubine.

La stercobiline est donc une forme de l'excrétion des pigments biliaires transformés dans l'intestin, par le travail de la digestion et les diverses sécrétions du tube digestif.

La stercobiline peut aussi être résorbée et elle est probablement éliminée par les reins sous forme d'urobiline, ou si elle est en excès, elle est éliminée à l'état d'urobiline pathologique qui peut être considérée comme identique à l'hydrobilirubine du foie et à la stercobiline.

Accessoirement, ainsi que l'ont démontré des recherches de Hoppe-Seyler sur les excréments des chiens, et aussi quelques observations de matières fécales dans diverses conditions pathologiques, la stercobiline comme l'urobiline peut avoir pour origine l'hématine et ses dérivés,



Hoppe-Seyler a donc pu soutenir l'opinion que l'hydrobilirubine et la stercobiline se forment aux dépens des transformations de l'hémoglobine des viandes ; cette origine est possible, mais elle n'a qu'une importance relativement secondaire, puisque dans la rétention biliaire ou dans les fistules biliaires, les selles restent incolores, ne renfermant ni stercobiline ni hydrobilirubine, ni urobiline, alors même que le régime est composé de viandes.

On voit donc qu'il est nécessaire, pour apprécier le rôle de ces pigments dans ce que l'on appelle la circulation entéro-hépatique, c'est-à-dire le processus des pigments biliaires, de conserver, entre les urobilines, l'hydrobilirubine et la stercobiline, les relations d'analogie que démontrent leurs réactions spectroscopiques aussi bien que leurs caractères chimiques.

Ces métamorphoses des pigments du sang, de la bile, de l'urine et des résidus intestinaux, présentent un ensemble de phénomènes physiologiques dont la simplicité fait contraste avec la complexité des analyses qui ont amené ce résultat synthétique si important.

---

## CHAPITRE IV

---

### SPECTROSCOPIE DES PIGMENTS

Les pigments sont des substances colorées produites dans l'organisme, ils offrent une importance considérable dans l'étude générale de la nutrition, car ils sont liés à toutes les fonctions.

Les uns, sont à proprement parler, des agents de la respiration, tels l'hémoglobine et ses dérivés ou se rattachent aux phénomènes de la nutrition comme les pigments biliaires, ou enfin aux plus importantes excrétions, tels sont les pigments urinaires.

Chez les animaux inférieurs où les fonctions sont moins distinctes les pigments peuvent servir à la fois à la respiration interstitielle et à la respiration cutanée.

D'autres pigments sont en rapport direct avec les organes des sens (pigments de l'œil, pigment choroïdien, pourpre rétinien) avec les tégu-



ments (pigments des plumes des oiseaux, des écailles des insectes), où ils ont un rôle de relations extérieures, soit d'ornement caractérisant un des sexes, comme la tétronérythrine des liserés rouges des joues du faisan ou bien ils servent au mimétisme ou transformation de coloration des téguments (caméléons).

Ils peuvent être des moyens de défense, comme le pigment brun des sépias, le pigment violet pourpre des aplysies ou limaces de mer.

Enfin certains pigments sont plus particulièrement liés aux fonctions de reproduction et de développement, tels sont les pigments du jaune d'œuf, des ovaires, des œufs de certains poissons.

Cette classification physiologique est certes plus rationnelle que celle qui ne serait basée que sur les colorations des pigments ou sur leurs caractères chimiques qui ne sont pas encore définis rigoureusement.

L'étude des réactions spectroscopiques combinée avec les réactions chimiques des pigments a eu pour premier résultat de multiplier les observations et de les étendre à toute la série animale; malheureusement, l'on a aussi multiplié les désignations des pigments, mais après cet excès d'analyse et d'appellations dérivées plus ou moins correctement du grec, la synthèse a repris

ses droits, et l'on a pu établir quelques groupes assez bien définis, par leurs caractères spectroscopiques et chimiques et par leur rôle physiologique. C'est dans cette voie que la spectroscopie biologique doit se maintenir, et c'est pourquoi nous avons dans différents chapitres établi l'histoire des principaux de ces pigments, de sorte qu'il nous reste seulement à signaler les caractères généraux des groupes les plus importants des pigments. On comprendra que nous nous bornions souvent à une simple énumération, insistant seulement sur les réactions spectroscopiques lorsqu'elles présentent une caractéristique suffisante pour le classement de ces principes colorants. Aux *pigments respiratoires* proprement dits, ceux que nous avons décrits à propos du sang, de la lymphe, dans la série animale et qui sont caractérisés par l'association de la matière colorante à une substance albuminoïde, c'est-à-dire l'hémoglobine et ses dérivés, l'hémocyanine dans laquelle le cuivre remplace le fer de l'hémoglobine, l'hémoérythrine (voir *Le sang et les Hémolymphes chez les invertébrés*, 2<sup>e</sup> aide-mémoire, Ch. V), il faut ajouter quelques pigments moins nettement définis, mais qui présentent ce caractère important et commun qu'ils sont modifiés par les agents



d'oxygénation, l'air oxygéné, ou les agents faibles de réduction, l'air chargé d'acide carbonique, ou les solutions faibles de sulfure de sodium ou sulfure d'ammonium, enfin, la caractéristique des pigments respiratoires, est que les changements de coloration dus à la réduction sont réversibles, c'est-à-dire que l'on peut reproduire alternativement l'état de réduction et l'état d'oxygénation.

Au premier rang, se place l'*histohématine* de Mac-Munn qui est un pigment répandu dans un grand nombre de tissus, mais qui est surtout intéressant comme matière colorante du muscle (voir *Myo-Hématine*, *Muscle*, Ch. III, 2<sup>e</sup> aide-mémoire de Spectroscopie biologique).

La **Chlorocruorine**, que Lankester a étudiée chez les sabella et certaines serpules (vers) est un pigment renfermant du fer, de coloration verte (qui cependant peut être rougeâtre) mais qui se présente sous deux modifications qui sont comparables à celles de l'oxyhémoglobine et de l'hémoglobine réduite. La transformation de cette substance sous l'influence de l'oxygène ou des réducteurs peut s'observer non-seulement chez l'animal vivant, mais aussi *in vitro*.

La *chlorocruorine* oxygénée présente deux bandes, l'une entre C et D, l'autre entre D et E;

la chlorocruorine réduite montre une bande unique, qui occupe la position de la première bande  $\alpha$  de l'oxyhémoglobine, mais avec des bords moins nets (Lankester).

L'**Hémoérythrine** qui a été rencontrée dans les corpuscules de sang du sipunculus, du phascolome, du phoronis (Lankester, Krukenberg) ne présente pas de spectre caractéristique.

**Lipochromes ou lutéines.** — Les pigments de ce groupe dont les types principaux sont la couleur jaune du tissu adipeux, du jaune d'œuf, du beurre naturel et du sérum du sang, présentent des caractères communs qui permettent, comme l'a dit Krukenberg, de les reconnaître et de les grouper au milieu du « chaos » des pigments animaux ou végétaux ; leurs caractères chimiques sont la solubilité comme les graisses dans l'éther, l'alcool, le benzol et l'essence de térébenthine.

Ils ont des réactions colorées spéciales.

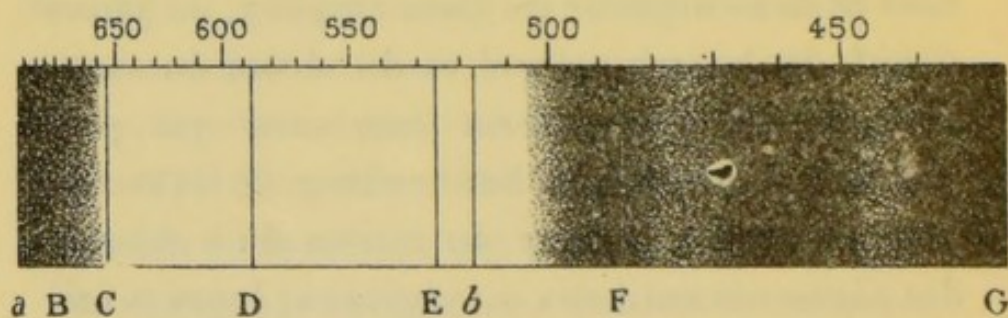
L'iode, l'acide sulfurique les colorent en bleu ou en vert, l'acide nitrique les colore en vert.

Ils ont une coloration s'étendant du jaune au rouge et au jaune vert, de plus, leurs réactions spectroscopiques diffèrent très peu, elles sont surtout caractérisées par une absorption des rayons entre le vert et le violet, soit de  $b$  à  $G$  et le plus



souvent une ou deux ou même trois bandes entre *b* et *h*, séparées par des espaces bleu et bleu violet plus ou moins larges.

La *fig. 7* montre un type de cette absorption, c'est-à-dire le spectre de l'ovolutéine (ou lipochrome du jaune d'œuf), en solution chloroformique, c'est presque identiquement le spectre de la carottine ou substance colorante jaune de la carotte qui est dans la série végétale le type des lipochromes. Les lipochromes



*Fig. 7.* — Spectre de l'ovolutéine.

sont très facilement décolorés par la lumière mais ils présentent une intensité tinctoriale très remarquable. La carottine cristallisée a pour formule  $C^{42}H^{64}O$ , c'est la seule substance de la série hydro-carbonée qui soit colorée. Les lipochromes sont très répandus dans les organismes animaux et même végétaux, dont ils forment les pigments, colorants les plus variables, surtout parmi les colorants jaunes ou orangés.

Chez les animaux supérieurs, les vertébrés, ils

ont une relation particulière avec les organes des sens les plus délicats, par exemple, le pourpre rétinien ou rhodopsine ; ils se retrouvent dans la glande pituitaire, la portion corticale des capsules surrénales, la sécrétion sébacée, le lait, le tissu adipeux, et enfin dans les téguments des oiseaux ; ils donnent aussi aux reptiles, aux batraciens, en grande partie leurs couleurs vives et changeantes.

En résumé, les lipochromes sont chez les vertébrés supérieurs liés aux fonctions sensorielles, tégumentaires, et aux dépôts des produits d'épargne dans les tissus. Existant dans l'œuf (ovolutéine) où ils représentent l'origine des pigments, et plus tard colorant le sérum du sang ils se retrouvent non-seulement dans les humeurs normales, mais aussi dans les humeurs pathologiques, les sérosités, les épanchements inflammatoires.

Chez les invertébrés, les lipochromes ont un rôle moins bien défini, ils sont, en général, mélangés aux autres pigments respiratoires, de même que les phénomènes de la respiration cutanée sont souvent confondus avec les transformations nutritives, les lipochromes s'unissent aux pigments respiratoires, comme chez les crustacés, ils peuvent enfin s'unir à des pigments



d'origine végétale (la chlorophylle, l'indigo) dont ils deviennent les intermédiaires entre les animaux et les végétaux. C'est ainsi que le groupe des lipochromes comprend le plus grand nombre des matières colorantes jaunes et orangées de l'organisme, depuis le pigment de la graisse chez les animaux jusqu'à la xanthophylle des feuilles, des fruits, des fleurs à coloration jaune plus ou moins intense, telles que les crocus, le mélilot, l'asperge, les baies de belladone, le physalix et parmi les racines, la carottine.

Nous tenons à faire remarquer ici, encore une fois, que les caractères chimiques et spectroscopiques s'unissent pour démontrer ces relations remarquables qui ne seraient pas suffisamment caractérisées si l'on se contentait isolément soit des réactions physiques soit des réactions chimiques.

Les **mélanides** forment un troisième groupe de pigments très répandus dans l'organisme, comprenant les pigments bruns, ou noirs, quelquefois même violets ; tels sont la fuscine, pigment noir de la choroïde, le pigment noir de la peau et des cheveux, des ailes noires de certains oiseaux, le pigment noir des sarcomes mélaniques, des mélanomes du cheval blanc.

Dans ces pigments, on retrouve le plus sou-

vent du fer, mais dans quelques-uns ce métal est absent, principalement dans ceux que l'on a isolés chez les animaux inférieurs.

Ils ne donnent pas de réactions spectrales caractéristiques, mais seulement une obscurité plus ou moins régulièrement dégradée dans tout le spectre.

Il faut faire exception pour la mélanose du sarcome qui présente dans les tissus mêmes des teintes variant du noir au rouge brun, dans lesquelles on peut retrouver le spectre de l'hématine réduite, ou de l'hématosidérose, du moins dans les parties périphériques des tumeurs en évolution ou dans les injections interstitielles ainsi que je l'ai montré chez des cobayes et des rats blancs inoculés par la mélanose (1).

Bien qu'elle ne soit pas constante dans les tumeurs mélanotiques, la présence du fer a été constatée en petite quantité dans les sarcomes, Morner l'a démontrée au moyen du spectrophotomètre, dans le produit des cendres des tumeurs mélaniques et de même l'on a établi le coefficient d'absorption de la mélanose en diverses régions du spectre.

---

(1) HÉNOQUE. — *Sur l'inoculation du cancer*, Gaz. hebdomadaire, 1867, n° 705, 717, 781, et Société anatomique, t. XLIII, p. 233, 1868.



L'action de l'acide picrique sur les mélanines est fort remarquable, tandis que le pigment noir de la choroïde, des cheveux, des téguments à l'état normal n'est point modifié par l'action de l'acide picrique, il n'en est pas de même du pigment des sarcomes et des cancers mélaniques, dans lequel il est possible de suivre sur des coupes traitées par le picro-carmin ou même l'acide picrique, l'infiltration de la matière colorante du sang dans les éléments des tissus et la transformation successive de l'hématine en mélanine, ce qu'il est possible de reproduire expérimentalement. Ne pouvant insister ici sur le rôle de la mélanine et sur l'origine et la distribution des granulations pigmentaires dans les cellules, nous renvoyons pour cette étude à la récente thèse de M. Paul Carnot <sup>(1)</sup> qui renferme les notions d'anatomie et d'anatomie physiologique les plus complètes sur les granules, les cellules pigmentaires et les nerfs colorateurs. La dernière conclusion de l'auteur est intéressante à citer parce qu'elle met en relief un aperçu nouveau du rôle physiologique des pigments.

« D'une façon générale, dit M. Carnot, on peut

---

<sup>(1)</sup> P. CARNOT. — *Recherches sur le mécanisme de la pigmentation*. Thèse de Doctorat de la Fac. des Sc. de Paris. N° 906, 26 décembre 1896.

« envisager la pigmentation comme une défense  
« de la cellule contre les rayons lumineux, sur-  
« tout chimiques. Cette réaction de défense est  
« devenue générale contre toutes les excitations  
« (mécaniques, chimiques, etc.), en déviant de  
« sa signification primitive. Au point de vue  
« phylogénique, peut-être doit-on considérer  
« avec M. Giard la localisation cutanée du pig-  
« ment comme la fixation, pour cause d'utilité  
« publique, des substances toxiques excrétées par  
« cette voie, mais dont la rétention a modifié  
« en mieux les conditions d'existence de l'indi-  
« vidu ».

Il faut considérer comme appartenant aux mélanines, le pigment de la sèche, qui est un exemple de production pigmentaire ayant un rôle de défense, mais, au point de vue spectroscopique, ce pigment ne présente pas d'autre caractéristique qu'une absorption plus ou moins prononcée dans toute l'étendue du spectre.

On peut rapprocher des mélanines ou des pigments dermiques l'éléidine, découverte par Ranvier <sup>(1)</sup>, et qui est une matière colorante de

---

(1) RANVIER. — *Sur une substance nouvelle de l'épiderme*, etc. Cp. R. Ac. des Sc. 30 juin 1879 et *De l'éléidine, distribution et répartition de cette*



l'épithélium dans la couche située au-dessus du corps muqueux, et du revêtement épithélial de la muqueuse buccale et de la langue chez un grand nombre de mammifères, mais ce pigment n'a pas été l'objet de recherches spectroscopiques. Nous savons cependant qu'il n'est pas assez concentré pour modifier l'examen spectroscopique du sang, puisque si l'on examine la surface sous-unguéale où il n'existe pas, à côté de la surface cutanée, l'on n'observe pas de différence appréciable dans l'aspect du spectre des deux parties.

**Pigments tégumentaires** ou *pigments dermiques*. On réunit sous ce nom des pigments plus ou moins bien déterminés, offrant des couleurs fort variables, et qui semblent devoir rentrer dans un des groupes précédents, lorsqu'ils seront mieux connus.

Je me contenterai d'en citer quelques exemples. Telle est la Turacine, qui est le pigment des plumes bleues des Touracos, qu'on peut obtenir en paillettes cristallines et dont les solutions présentent deux bandes entre D et E et une composition chimique déterminée. D'autres pigments peuvent être extraits des plumes d'oiseaux qui

---

*substance*. Cpt. R. Ac. des Sc., 10 décembre 1883, et Archives de Physiologie, 1884.

ne doivent pas leur coloration aux phénomènes de diffraction. Krukenberg <sup>(1)</sup> en a figuré un tableau schématique qui doit être consulté par ceux qui voudraient poursuivre ces études.

**Aplysine.** — Le liquide violet des aplysies, ou limaces de mer, représente des caractères très particuliers qui l'éloignent de la plupart des autres pigments des mollusques ; en effet, ce liquide que les aplysies excitées ou effrayées émettent comme moyen de défense, s'éloigne par ses propriétés chimiques et spectroscopiques des pigments respiratoires ou d'origine animale ; en somme, ainsi que l'a soutenu Ziegler, le spectre de l'aplysine présente avec celui des couleurs d'aniline une grande analogie.

Ce serait un mélange de rouge d'aniline et de violet d'aniline, dont les caractères de l'un ou l'autre des composants dominant suivant l'action des acides ou des alcalins.

De fait, le liquide coloré abandonné dans l'eau de mer à la putréfaction passe par des colorations violette, rouge, grenat, orangé et jaune et donne des spectres très différents.

Par exemple, le liquide étant exprimé et dis-

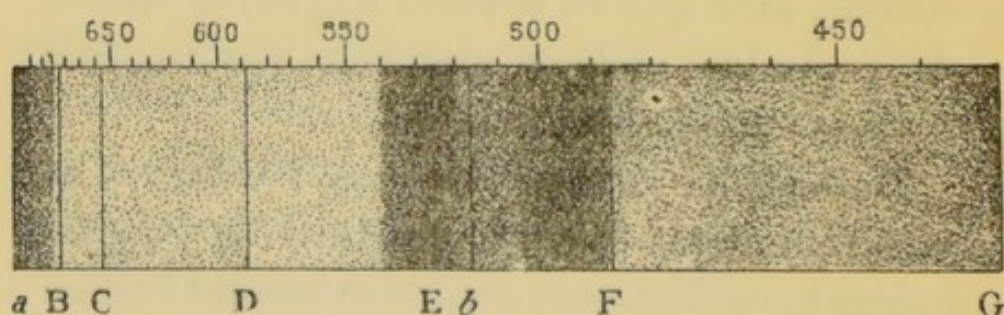
---

<sup>(1)</sup> KRUKENBERG. — *Grundzüge einer Vergleichende der physiologie der Farbstoff und des Farben*, Heidelberg, 1884.



sout dans l'alcool puis filtré, il présente, suivant l'épaisseur, un spectre d'absorption presque continu, ne laissant passer que les rayons rouges ; mais à une épaisseur moindre, on aperçoit un renforcement de l'obscurité au niveau de la raie D des deux côtés, puis au niveau de la raie F et enfin entre B et F.

Dans une solution alcoolique diluée, on voit le spectre formé d'une bande large et foncée de F à E s'étendant jusqu'à  $550\text{ }\mu$  ; sous une épaisseur plus faible, on ne distingue plus que deux bandes, l'une plus foncée et plus large au niveau



*Fig. 8.* — Spectre du pigment de l'aplysie en solution alcoolique.

de F de  $480$  à  $500\text{ }\mu$  et l'autre à droite et à gauche de E s'étendant de  $520$  à  $540\text{ }\mu$ .

L'oxalate de potasse colore le liquide en orangé et donne un spectre continu de E à F et au-delà avec une diminution progressive de l'obscurité de E à D.

Le fluorure de sodium produit une couleur carmin foncé avec spectre d'absorption s'éten-

dant du milieu de l'espace CD à F, avec renforcements à droite et à gauche de D et entre b et F l'espace intermédiaire étant moins obscur.

Lorsque le liquide exposé à la lumière et à l'air s'est décomposé et a pris une teinte de bière foncée (ou teinte de l'urine rouge jaune de Neubauer), on observe, sous une épaisseur convenable, un spectre bien plus compliqué.

Par exemple, j'ai noté après une macération d'un mois dans l'eau, l'obscurité du spectre de A à B et au-delà, jusqu'à 660  $\lambda$ , une première bande commençant à droite de C s'étendant de 645 à 630  $\lambda$ , une deuxième bande moins foncée au niveau de D de 590 à 570  $\lambda$  et une troisième bande la plus foncée s'étendant de E à F qu'elle déborde en devenant moins obscure, jusqu'à 470  $\lambda$  où le spectre n'est plus éteint.

Ces observations ont été faites sur quarante aplysies recueillies soit à Concarneau, soit à Beaulieu-sur-Mer dans la Méditerranée. Elles sont confirmatives à bien des égards de celles de Mo-seley et de Mac-Munn qui ont observé des aplysies, celui-ci sur la côte ouest de l'Irlande, celui-là aux îles du Cap Vert.

Il semble résulter de ces réactions que le liquide des aplysies est une humeur mixte, mais il n'est pas prouvé que la coloration en soit due



réellement à des matières colorantes dérivées de l'aniline.

La **punicine** est le pigment qui constituait la *Pourpre de Tyr* ; elle est fort intéressante au point de vue historique et grâce aux travaux de M. Lacaze-Duthiers, il a été possible de reconstituer l'origine de la fabrication de la pourpre qui, comme moyen de teinture, était une production industrielle fort importante chez les Grecs et les Romains.

La punicine est un produit de sécrétion de mollusques marins appelés « purpuridés », et plus particulièrement du purpura et du murex, elle existe à l'état de chromogène incolore qui, sous l'influence de la lumière solaire, prend une couleur qui devient successivement jaune, verte, violette et pourpre.

Pour préparer la punicine, on ouvre les purpura ou les murex et, découvrant la glande entre le manteau et le tube digestif à côté des organes génitaux, on en recueille le mucus à l'aide d'un pinceau, il est incolore et si on l'étend avec de l'eau et qu'on l'expose à la lumière solaire il prend les colorations verte, bleue, violette.

Si on dissout le mucus dans l'alcool, on obtient pour la solution la même action solaire, et un dépôt de pigment sous forme de poudre

cristallisée, insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther, mais très soluble dans l'aniline, ce qui permet de l'isoler sous forme de groupes de cristaux étoilés et d'aiguilles irrégulièrement disposées. Cette substance est un *chromogène*, elle se transforme par oxydation en pigment coloré en pourpre.

Il y aurait même, suivant Letellier, deux chromogènes dans les mollusques purpuridés, l'un vert pomme qui vire à la lumière au bleu foncé, l'autre vert cendré qui tourne au carmin, et ces colorations seraient dues à un phénomène de réduction puisque les chromogènes se colorent sous l'influence des agents réducteurs et se décolorent par les oxydants.

Les solutions alcooliques de la punicine présentent un spectre caractérisé par une large bande obscure s'étendant de C à D qu'elle dépasse un peu.

L'on peut rapprocher de la punicine quelques pigments analogues produits par divers mollusques autres que murex et purpura.

**Carmin.** — Parmi les pigments observés chez les insectes et qui ne sont pas encore classés dans les groupes précédents, nous citons l'aphidéine, provenant des pucerons, et la stentorine bleue, qui semblent être des pigments respiratoires,



mais la plus importante de ces matières colorantes est celle que produit la cochenille, parce qu'elle est l'origine du carmin, qui présente des réactions spectroscopiques qu'il faut bien connaître, car elles ressemblent au premier examen à celles de l'oxyhémoglobine, ainsi que le montre la *fig. 9*.

Le carmin ou acide carminique est le pigment rouge extrait de la cochenille (*coccus cacti*), mais on le retrouve aussi dans d'autres espèces de *coccus*, ou gallinsectes et même aussi dans certaines plantes ; par exemple, dans les fleurs de la *monarda didyma*. On le trouve dans le commerce sous forme d'une poudre amorphe soluble dans l'eau et les acides minéraux, il est surtout employé à l'état de solution ammoniacale pour la fabrication de l'encre rouge ; et à l'état de picro-carminate d'ammoniaque, il constitue un des réactifs les plus utilisés en histologie pour la coloration du noyau des cellules.

Ces solutions ammoniacales ou picro-ammoniacales présentent deux bandes d'absorption, fort semblables à celles de l'oxyhémoglobine, mais elles en diffèrent par leur position ainsi qu'on peut s'en rendre compte par la *fig. 9* représentant une solution de carminate d'ammoniaque à  $\frac{1}{2400}$  (spectre inférieur) et une solution

d'oxyhémoglobine examinées à un centimètre cube d'épaisseur.

On voit que la première bande du carmin commence un peu au-delà de D, soit à 580  $\lambda$ , elle

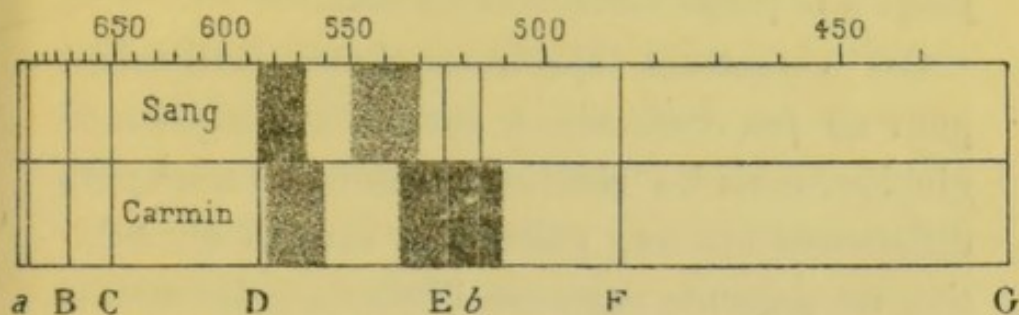


Fig. 9. — Spectres du carmin et du sang oxygéné.

s'étend à 565  $\lambda$  environ, la seconde bande s'étend de 535 à 500  $\lambda$ , c'est-à-dire commence un peu avant E et finit un peu au-delà de *b* masquant le vert et aussi une partie du bleu cyané. En outre, tandis que la bande  $\alpha$  est plus foncée que la bande  $\beta$  de l'oxyhémoglobine, c'est au contraire la deuxième bande qui est plus foncée dans la solution carminée.

Les caractères des solutions plus concentrées de carmin sont variables ; en effet, suivant l'épaisseur ou la concentration, on peut voir les deux bandes réunies, puis enfin l'extinction de tous les rayons colorés sauf la plage rouge, comme dans les verres rouges des photographes. Une solution de carmin ammoniacal à  $\frac{1}{1000}$  examinée à l'épaisseur d'un centimètre avec le spec-



troscopie à vision directe ne laisse plus passer que les rayons rouges, quelques rayons rouge orangé; mais l'obscurité du spectre est complète environ depuis  $620 \lambda$ , milieu du rouge orangé, jusqu'à la plage violette et au-delà.

Ces caractères spectroscopiques suffiraient pour ne pas confondre le carmin et l'oxyhémoglobine, mais les réactions chimiques sont plus différentes encore, puisque le carmin en solution ne présente pas sous l'influence des agents réducteurs (sulfhydrate d'ammoniaque, sulfure de sodium) une bande de réduction analogue à celle de l'hémoglobine réduite.

Les solutions de pico-carminate d'ammoniaque, fort employées dans la technique microscopique, présentent une coloration analogue à celle du sang, ce qui les a fait utiliser par Malassez <sup>(1)</sup> pour établir des étalons de matière colorante destinés à être comparés avec des solutions de sang. Le pico-carminate d'ammoniaque présente un spectre composé, c'est-à-dire les deux bandes du carmin et, en plus, la bande de l'acide picrique située dans le bleu vers F.

---

(1) MALASSEZ. — *Note sur le spectre de pico-carminate d'ammoniaque*. Archives de phys. norm. et path., t. IV, p. 41, 1877.

**Pigment chlorophyllien. Chlorophylle animale.** — La chlorophylle a été trouvée chez des animaux d'ordre inférieur et même chez des insectes ; cependant il ne faut pas croire que tout ce qui est coloration verte des téguments ou des tissus corresponde à la chlorophylle, et d'ailleurs la chlorophylle peut n'être pas verte, mais prendre une coloration rouge plus ou moins foncée comme chez certains rhizopodes marins, par exemple, le plakopus ruber. Enfin la chlorophylle, que l'on rencontre chez quelques animaux inférieurs, est due à la présence dans leurs tissus transparents d'algues vertes unicellulaires colorées par la chlorophylle. C'est alors un simple phénomène de symbiose. Néanmoins, la chlorophylle se trouve à l'état de granulations colorées faisant partie constituante de certaines cellules. En effet, suivant Engelmann, la chlorophylle existe à l'état de granulations dans l'ectoplasma de certaines vorticelles, et différents auteurs l'ont également observée dans l'hydre verte, l'euglena viridis, le stentor polymorphus, la spongia fluviatilis. Mac-Munn a retrouvé aussi la chlorophylle dans diverses éponges de mer, dans les élytres de cantharides <sup>(1)</sup>. Ce même observateur a signalé la pré-

---

<sup>(1)</sup> MAC-MUNN. — *Journal of physiology*, IX, I.



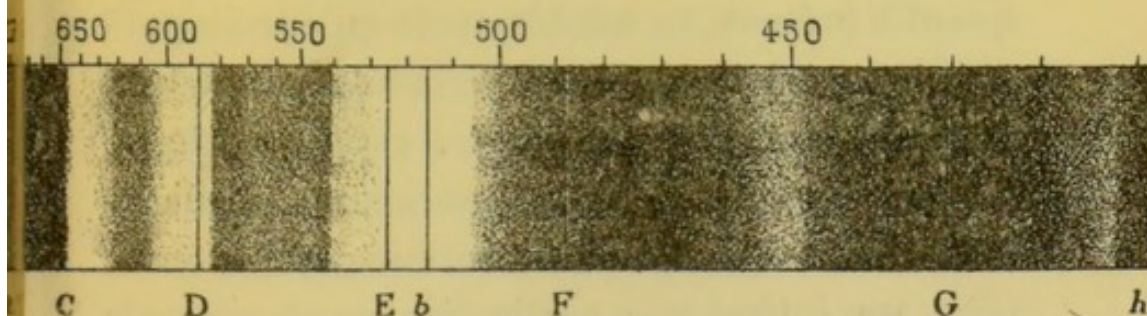
sence d'une chlorophylle dans le foie de divers invertébrés, et il lui attribue sous le nom d'entérochlorophylle un rôle respiratoire <sup>(1)</sup>. Enfin parmi les insectes, chez les orthoptères à coloration verte, les mantes religieuses, on retrouve une chlorophylle dans les téguments, ainsi que je l'ai constaté chez plusieurs espèces de sauterelles, en particulier les locustides ou sauterelles à sabre. On retrouve la chlorophylle dans l'alcool où ces insectes sont conservés, et l'on peut assurer que c'est bien dans les téguments et non dans le contenu de l'intestin que ce pigment existe, puisqu'on l'obtient ainsi que je l'ai fait, en enlevant préalablement l'abdomen avant de faire la macération alcoolique ou chloroformique du reste de l'insecte. On peut opérer de même avec les élytres des cantharides et par conséquent on peut se servir de la poudre de cantharides pour préparer cette chlorophylle qui fait bien partie intégrante des téguments. La *fig. 10* montre le spectre de la chlorophylle préparée par un extrait chloroformique de poudre de cantharides.

Ce spectre est composé de quatre bandes, la première située dans le rouge entre B et C, c'est-à-dire entre 697 et 650  $\lambda$ . Cette bande est la

---

(1) *British medic. assoc.*, vol. XXXV, p. 370.

plus noire, la plus foncée, une seconde bande est située entre C et D dans l'orangé, soit de 625 à 600  $\lambda$ , et la troisième bande à droite de D occupe la plage orangé jaune et jaune de 585 à 576  $\lambda$ , la quatrième dans le jaune vert, vert jaune, 549 à 560  $\lambda$ , une large bande obscure de



*Fig. 10.* — Spectre de la teinture chloroformique de cantharides, concentrée, les troisième et quatrième bandes sont presque confondues.

490 à 460  $\lambda$  dans le bleu, puis la réapparition du spectre bleu, et enfin une plage obscure s'étend du milieu de l'espace de F à G dans l'indigo, 445 à 425  $\lambda$ , laissant apercevoir la plage bleu violet, vers 320  $\lambda$ .

Ce spectre correspond à celui de la chlorophylle et au spectre de la chlorophylle observée par H. Becquerel et C. Brongniart chez les Phyllies, orthoptères de la famille des Plasmides, insectes qui atteignent une taille considérable et présentent ce mimétisme remarquable qui les fait ressembler à des feuilles. L'examen spectroscopique du *phyllium crurifolium*, provenant



de Java, à l'état vivant, leur a fait constater un spectre ne différant de celui des feuilles vertes que par des détails d'obscurité et d'étendue des bandes sans importance.

Le rôle de la chlorophylle chez les animaux est, en somme, accidentel, car la chlorophylle, quant à présent, ne semble avoir qu'une importance secondaire comme pigment, et surtout comme pigment tégumentaire, mais l'existence d'une chlorophylle chez les animaux, si manifeste chez les cantharides et certains orthoptères, offre un intérêt très particulier en physiologie générale et en zootechnie biologique ; la chlorophylle animale, en effet, se rattache à un groupe atomique qui est l'origine des chlorophylles ayant des caractères spectroscopiques communs, mais qui offrent certaines différences et des propriétés dont le rôle biologique n'a pas encore été suffisamment défini.

De même que les lipochromes forment une série analogique ou de transition entre les pigments des animaux et ceux des plantes, il est permis de faire cette hypothèse que la chlorophylle, chez l'animal comme dans la plante, présente des états intermédiaires, ayant des caractères spectroscopiques presque identiques et des fonctions analogues, et servant de transition en-

tre les pigments respiratoires qui produisent de l'acide carbonique avec l'oxygène de l'air, et les pigments chlorophylliens qui dégagent de l'oxygène, et fixent le carbone ou absorbent les rayons fluorescents de la lumière pour transformer leur potentiel en énergie chimique, ainsi que le dit A. Gauthier donnant une forme nouvelle aux conclusions de Claude Bernard qui a déterminé avec sa précision habituelle le rôle de la chlorophylle dans la nutrition.

« La fonction chlorophyllienne, dit-il <sup>(1)</sup>, appartient à la synthèse assimilatrice ou organisatrice qui forme les réserves ou régénère les tissus dans les organes... Le fait chlorophyllien est plus particulièrement sous la dépendance de la substance vivante par excellence, le protoplasma, soit dans la cellule, soit dans le noyau. »

Pourquoi hésiterait-on à admettre la chlorophylle animale, sous ce prétexte dogmatique que la chlorophylle établirait une distinction formelle entre l'animal et la plante ?

**Pigments microbiens.** — Je dois signaler ce dernier groupe de pigments dont l'étude spectroscopique est encore fort incomplète.

---

(1) BERNARD. — *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*, t. II, p. 222-239. Paris, 1879.



Ce sont ceux qui constituent les matières colorantes élaborées par les bactéries chromogènes. On les rencontre accidentellement dans les humeurs, le lait, la sueur, les larmes, le pus.

On a cependant observé les conditions générales de cette fonction chromogène ; les pigments se forment dans le protoplasma cellulaire, et ils ne sont nettement visibles que dans des amas ou les colonies de ces microbes, et surtout dans les cultures, où la coloration peut diffuser dans le milieu de culture ; cependant à l'état de développement parfait, ces pigments restent dans la cellule. La puissance chromogène varie avec l'activité du développement des bactéries, elle diminue lorsque la vitalité de ces éléments est atténuée, les colorations sont alors moins foncées, et même disparaissent. La lumière ne semble pas avoir d'influence marquée sur la fonction chromogénique, l'oxygène au contraire lui est nécessaire et l'active.

Enfin certaines bactéries présentent des colorations multiples suivant le milieu de culture, elles sont polychrômes. Les caractères spectroscopiques de ces pigments, n'ont été étudiés que

---

(1) CORNIL et BABÈS. — *Les Bactéries*, Paris, 1886 et MACÉ. — *Traité pratique de Bactériologie*, Paris, 1891.

sur un petit nombre d'entre eux, qui sont d'ailleurs les principaux types (<sup>1</sup>).

Le *micrococcus prodigiosus* est coloré en rouge, il a été rencontré dans l'air, dans la farine, le pain avarié, l'amidon cru, le pain azyme. C'est ce micrococcus qui, cultivé sur des hosties, y forme des taches rouges comparables à des taches de sang, phénomène longtemps considéré comme miraculeux, d'où le nom de prodigiosus. Il se développe aussi sur le blanc d'œuf cuit. Enfin il se rencontre dans diverses humeurs qu'il colore en rouge, telles que le lait, la sueur, la salive. Cependant il ne paraît pas être pathogène.

Ce pigment est insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'examen spectroscopique y démontre deux bandes situées dans le vert et le bleu, la première bande est plus large et plus obscure que la seconde qui est moins accentuée, ce spectre est caractéristique.

Le *Bacille érythrogène* se rencontre aussi dans le lait rouge (Hueppe). Sa matière colorante se différencie de la précédente par sa réaction spectroscopique. En effet, elle présente deux bandes noires entre D et E et une bande dans le bleu.



Le *Bacille du lait bleu* ou *Bacillus syncyanus*, a été étudié très complètement par Neelsen qui a figuré les réactions spectrales de cette matière colorante ressemblant à bien des égards à la triphényl-rosaniline. Recueillie dans les bacilles développés près de la surface du lait bleu contenu dans un vase, elle présente une large bande s'étendant de 605  $\lambda$  à gauche de D jusqu'à 550  $\lambda$  dans le jaune vert. La bande est très obscure à droite de D, environ de 559 à 550  $\lambda$ , puis elle s'atténue à droite et à gauche.

Traité par la potasse caustique, ce pigment devient rouge rose, avec une bande très large, commençant à droite de D (580  $\lambda$ ) très foncée jusqu'à E et *b* et s'étendant un peu au delà de F jusqu'à 470  $\lambda$ , mais en devenant progressivement plus obscure.

Les acides peuvent ramener au bleu la matière colorante, devenue rosée par les acides. Enfin si on la laisse longtemps en présence de la potasse caustique, elle prend une coloration briquetée, et au bout de 24 heures elle devient fluorescente.

Son spectre présente une large bande commençant un peu avant E, couvrant le vert, la raie *b* et le bleu cyané, la raie F et enfin

s'étendant dans une partie du bleu jusqu'à  $460 \text{ \AA}$  <sup>(1)</sup>.

Le *micrococcus ochroleucus*, trouvé par Legrain dans le pus de l'urétrite, ne présente pas de bandes délimitées, mais un obscurcissement du spectre depuis D jusqu'au delà de F, avec renforcement de l'absorption au niveau de F.

Le groupe des *Beggiatoacés* comprend aussi une espèce chromogène, à coloration couleur rose de pêche, c'est la *Beggiatoa Roseo-persicina* qui serait l'élément colorant de la morue altérée, dite *morue rouge*.

Son pigment présente une teinte rose d'où le nom de bactério-purpurine que Ray Lankester lui a donné. Son spectre est caractéristique, il est constitué par quatre bandes ; la première, large, est située dans le jaune près de D ; viennent ensuite deux bandes faibles dans le vert près de F et *b*, puis une bande faible dans le bleu près de F ; enfin à partir de G le spectre est obscur. On a rapproché ces réactions de celles de l'alizarine et de la purpurine. Tels sont les travaux qui peuvent servir d'exemple pour une étude d'ensemble des pigments des bactéries chromogènes.

---

(1) NEELSEN. — *Cohn. Beitrage z. Biol. d. Pfl.*, III, 2.



Il existe un grand nombre d'espèces, qui offrent toute une série de couleurs. C'est ainsi que la coloration rouge existe encore dans les colonies ou les cultures du *micrococcus cinabareus*, du *bacillus ruber*, du *micrococcus roseus* l'orangé, le jaune dans *micrococcus pyogenes aureus*, *micrococcus cereus*, *flavus*, *micrococcus luteus*, *sarcina lutea*, *bacillus synxantheus*.

La coloration verte existe dans le bacille de la diarrhée verte des enfants (Lesage), le *bacillus viridis*, le *bacillus chloreus*. Le *bacillus pyocyaneus* est vert et bleu, l'on trouve encore les teintes brunes dans le *bacillus fulvus*, le *bacillus brunneus*. Enfin le violet est représenté par le *bacillus violaceus*, le *bacillus janthinus*. A cette liste, s'ajouteront d'autres espèces, sans parler des bactéries polychromes, décrites par Thiry.

---

## CHAPITRE V

---

### DOCUMENTS TECHNIQUES

Dans le premier aide-mémoire de spectroscopie biologique, j'ai consacré un chapitre à la technique générale, et dans plusieurs des chapitres de ce livre, j'ai exposé les notions nécessaires au mode d'emploi des appareils plus spécialement destinés à l'étude du sang <sup>(1)</sup>. Il est utile de compléter ces notions par l'exposition de certains procédés qui se rapportent plus particulièrement à la spectroscopie des organes et des humeurs.

**Éclairage.** — Les humeurs, sous faible épaisseur, sont le plus souvent examinées à la lumière transmise, elles sont recueillies dans de petites cuves de verre en forme de parallélipipèdes, ou bien, prismatiques, qui sont placées devant la

---

(1) *Hématospectroscopes. Analyseur chromatique, ophtalmospectroscope.*



source de lumière, le gaz, la lampe Carcel, ou une lampe à pétrole. Dans ces cas, on examine horizontalement les liquides mais les dispositifs qui permettent d'observer directement et verticalement par transparence à la lumière solaire sont préférables. Nous avons vu qu'avec les cuvettes hématoscopiques, on peut utiliser un simple miroir placé devant une fenêtre avec l'inclinaison nécessaire, et les hématospectroscopes, sous une forme plus parfaite et plus facile à manier, offrent une platine sur laquelle on peut déposer de petites cuves de cristal, plus ou moins profondes, qui sont éclairées par transparence au moyen d'un miroir comme les microscopes ou les porte-loupes pour la dissection.

L'hématospectroscope (modèle de l'étudiant) figuré p. 89 de la *Spectroscopie du sang*, en partie démontable, tel que le construit actuellement M. Ph. Pellin, se prête à la plupart des combinaisons nécessaires pour observer dans des cuvettes ou dans des tubes plus ou moins larges. La lumière solaire est la plus favorable parce qu'elle montre les raies de Fraunhofer, ce qui permet de déterminer rapidement et de reproduire par le dessin la position et l'étendue des bandes avec un simple spectroscope à vision directe. Néanmoins, toutes les fois qu'on voudra

observer avec précision des bandes faibles situées près de D à gauche ou à droite, il est indispensable de vérifier avec une lumière artificielle, parce qu'à l'aurore ou vers le coucher du soleil, ou bien enfin lorsque le temps est brumeux ou pluvieux, le spectre de l'atmosphère humide présente des raies qui, très rapprochées, et ressemblant à des bandes d'absorption, pourraient être rapportées à l'absorption des humeurs examinées. Tel est le cas plus particulièrement pour l'analyse des urines. D'ailleurs, le spectroscopiste doit se familiariser avec le spectre de l'atmosphère qui a été l'objet des remarquables travaux de Janssen <sup>(1)</sup>.

Il est plus souvent nécessaire d'étudier les humeurs ou les solutions pigmentaires à des épaisseurs variables, et de pouvoir apprécier les transformations des spectres produites par une différence d'épaisseur très notable qui correspond, en somme, à une différence de concentration. Je rappelle que c'est le principe qui m'a mené à constituer l'hématoscope, mais pour des études qualitatives plus simples, il y a divers

---

<sup>(1)</sup> *Comptes-rendus de l'Académie des sciences*, 1868, p. 672 et 1635, p. 1889, 431, 1890.

LEFÈVRE. — *Spectroscopie*. Encyclopédie des Aide-mémoire, Gauthier-Villars et Masson, éditeurs, p. 133-136.



moyens à utiliser ; ainsi que je l'ai dit à propos de l'urine, les vases prismatiques, dits indigotières, lorsqu'on en a gradué l'épaisseur pour les diverses hauteurs de liquide, sont d'une application des plus faciles, puisqu'il suffit de les maintenir verticalement devant la lumière du ciel ou une lumière artificielle pour étudier avec le spectroscope à vision directe tenu horizontalement, le spectre des solutions variant en épaisseur de quelques millimètres à 30 ou 35 millimètres.

On a construit, suivant les mêmes indications, des prismes de base beaucoup plus large, mais ils ne présentent pas d'avantages et il est bien préférable, je le répète encore, d'employer des dispositifs qui permettent d'examiner verticalement et à la lumière réfléchie par un miroir les liquides sous des épaisseurs variables.

#### **Éclairage par la lumière blanche diffuse.**

— L'emploi des réflecteurs blancs, soit en porcelaine, émail ou même de papier blanc est fort utile en spectroscopie, soit pour examiner les objets par transparence, c'est-à-dire en remplaçant le miroir réflecteur par une plaque de porcelaine ou d'émail blanc, soit pour examiner le sang dans des godets en porcelaine, ou par une application des plus simples pour étudier au

spectroscope l'urine dans le vase de nuit de porcelaine blanche.

Une démonstration que j'ai faite à la Société de biologie le 9 février 1884 <sup>(1)</sup> et qu'il est facile de répéter, met en évidence l'action de la double réflexion de la lumière blanche.

Une série de tubes ayant 1 centimètre de diamètre renferme des substances qui présentent des bandes d'absorption, les dilutions sont déterminées de manière que certaines bandes apparaissent à peine si on les examine par transparence à la lumière d'une bougie ; or, si ces tubes sont posés sur une plaque de porcelaine blanche et exposés à la même lumière, mais directement, c'est-à-dire placés au-dessous de la flamme et inclinés de façon à réfléchir la lumière, on voit les bandes apparaître plus nettement et l'on en peut constater d'autres qui n'étaient pas visibles.

1° Une solution de sulfate de didyme à  $\frac{1}{200}$  examinée par transparence dans le tube de 1 centimètre d'épaisseur ne montre pas de bandes d'absorption nettes, mais si le tube est placé sur une plaque de porcelaine, on peut distinguer à la lumière d'une bougie une bande

---

(1) HÉNOQUE. — *Cpt. R. S. B.*, 8<sup>e</sup> série, t. I, p. 59.



formée de raies presque confondues entr'elles, à droite de la raie D et même une seconde bande dans le vert.

2° Une solution de picro-carminate d'ammoniaque à  $\frac{1}{300}$  montre deux bandes caractéristiques à droite de D dans le jaune et dans le vert, si on l'examine sur la porcelaine les deux bandes sont réunies, et l'espace jaune-vert qui les séparait a disparu.

3° Du sang humain en dilution étendue ne présentant qu'une teinte rose très pâle, examiné par transparence, ne montre aucune bande caractéristique ; mais, observé sur la porcelaine, il montre la bande large caractéristique de l'hémoglobine réduite.

4° L'hémolymphe de la larve du chironomus étendue d'eau montre, par transparence, les deux bandes de l'oxyhémoglobine ; vue sur du papier porcelaine (papier du sphygmographe ou des cartes de visite) elle montre ces deux bandes plus larges, à peine séparées par un espace vert sombre.

5° De la teinture de cantharides montre par transparence une bande très nette dans le rouge. En l'examinant sur la porcelaine, on distingue une seconde bande dans l'orangé à gauche de D.

6° De l'essence de violettes présente par trans-

parence une bande dans le rouge, et sur la porcelaine, deux autres bandes dans l'orangé et près du bleu, caractéristiques de la chlorophylle. J'ai cherché à déterminer la valeur de l'augmentation produite sur l'intensité des phénomènes spectroscopiques par la lumière blanche diffuse, mais je n'ai pu encore l'évaluer que d'une manière approximative; cependant il m'est démontré que, pour le sang, les solutions de sels de didyme, l'épaisseur de la couche observée à la lumière solaire donne des bandes d'absorption aussi nettes que les mêmes solutions observées par transparence ayant une épaisseur double et même triple. C'est ainsi que six gouttes de solution de sang à  $\frac{1}{100}$  diluées dans 1 centimètre cube d'eau donnent, par l'éclairage de la porcelaine, deux bandes aussi nettes que douze gouttes de la même dilution examinée par transparence, l'épaisseur restant la même.

Ces notions ont été le point de départ de plusieurs procédés, utiles en spectroscopie et en clinique, que je dois décrire avec quelques détails.

**Procédés des godets.** — Dans les recherches spectroscopiques où l'on ne peut examiner que quelques gouttes de liquide coloré, ou bien un tissu imprégné de matière colorante, on se sert, avec grand avantage, de godets de porcelaine



blanche, de 2 à 3 centimètres de diamètre. C'est par ce procédé que j'ai pu, en recueillant quelques gouttes de sang extraites de l'oreille chez des cobayes et des lapins et déposées dans une série de godets, étudier, à des intervalles de deux à cinq minutes, les transformations de l'hémoglobine en méthémoglobine produite par le nitrite de sodium et le nitrite d'amyle, déterminer ainsi le temps nécessaire pour la production de la méthémoglobine, la durée de cette transformation, et aussi la durée du temps nécessaire pour l'élimination des nitrites ou plutôt la période de restitution de l'hémoglobine dans le sang <sup>(1)</sup>.

Le procédé des godets, est utilisable pour l'examen des humeurs ou des pigments dont on ne peut avoir qu'une petite quantité, parce qu'il permet d'examiner ces liquides sous des épaisseurs variables par la simple inclinaison du godet.

Enfin, dans les études médico-légales des taches de sang ou d'autres substances colorées sur du linge, des tentures, du bois, on procédera de la manière suivante : Une portion du tissu présentant la tache, que ce soit du linge ou

---

(1) HÉNOQUE. — *Étude spectroscopique de l'action du nitrite de sodium sur le sang*. Comptes rendus Soc. de biologie, séance du 22 décembre 1895.

même une lamelle de bois, de parquet, est collée dans un godet de porcelaine avec une colle incolore, puis humectée d'eau. On l'examine alors avec un simple spectroscopie à vision directe et l'on peut faire agir sur la tache les réactifs caractéristiques; par exemple, les agents réducteurs tels que le sulfhydrate d'ammoniaque s'il s'agit du sang : on a ainsi l'avantage d'éviter la séparation de la tache et du tissu, ou une dilution qui fait disparaître la substance colorante, c'est-à-dire la preuve matérielle qui doit, au contraire, rester contrôlable.

**Éclairage par la lumière diffuse d'origines diverses.** — Le mode d'éclairage employé dans l'examen hématoscopique de l'ongle et des téguments, est la lumière diffuse, il n'est pas nécessaire de répéter les indications que j'en ai données.

Il peut se faire aussi au moyen de la lumière électrique par incandescence, par le gaz, et avec une lampe à pétrole.

Lorsqu'on veut étudier la durée de la réduction au pouce la nuit ou dans un endroit obscur, on se sert avec avantage de la lumière électrique par incandescence, la *fig. 11* montre le dispositif que j'ai imaginé dans ce but.

L'appareil est constitué par un collier qui est



fixé sur le tube du spectroscopie par une vis de pression située à la partie inférieure.

L'anneau est muni à sa partie supérieure d'une borne dans laquelle est fixée la tige de la lampe, qui est courbée à angle de façon que la lampe et son réflecteur projettent la lumière au-

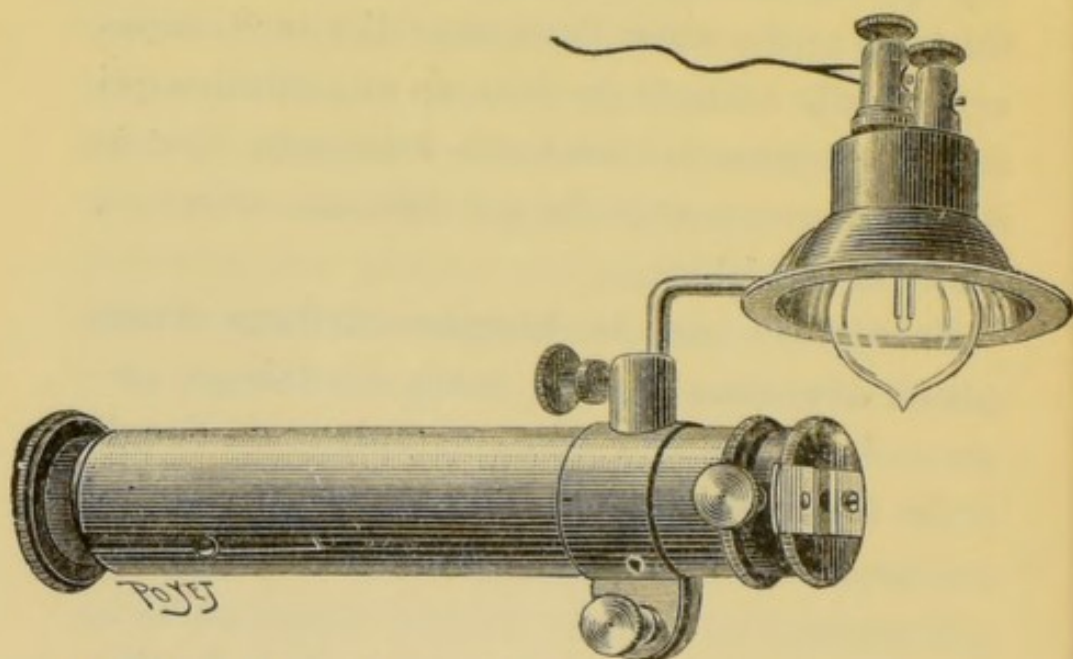


Fig.. 11. — Spectroscope éclairé par une lampe à incandescence.

dessus et en avant de la fente du spectroscopie et éclairent l'angle du pouce. La petite lampe à incandescence est fixée dans le réflecteur, deux petites bornes placées au-dessus de celui-ci reçoivent les conducteurs qui transmettent le courant d'un accumulateur ou d'une pile au bichromate donnant 4 volts.

Pour terminer, il est utile de signaler les avantages que présente l'examen direct des filtres imbibés de substances colorantes, par exemple pour les pigments de l'urine, les pigments biliaires, enfin les diverses taches qu'on peut observer sur les linges dans les expertises médico-légales : sang, méconium, matières stercorales. Un examen préalable à la lumière diffuse peut donner de précieuses indications. On facilite l'examen en imbibant les filtres d'huile, de glycérine ou de vernis.

---



## CHAPITRE VI

---

### SPECTROSCOPES POUR L'EXAMEN DES LIQUIDES A ÉPAISSEUR VARIABLE

Avant de décrire les appareils ingénieux et précis qui ont été inventés dans le but d'examiner les liquides sous des épaisseurs variables, je signale le dispositif le plus simple que j'ai bien souvent utilisé dans les recherches préliminaires du spectre des substances colorantes.

On dispose sur la platine de l'hématospectroscope de l'étudiant, ou même sur la platine d'un *stativ* quelconque comme celui d'un porte-loupe à dissection, un vase de verre en forme de cône tronqué et gradué, tel qu'on en emploie surtout en photographie, sous le nom de godets gradués; on les choisit de façon que le fond soit bien régulier et transparent, sans bulles, et avec la graduation en centimètres cubes. On établit une échelle de l'épaisseur du liquide correspon-

dante, de sorte qu'on puisse toujours déterminer l'épaisseur ou la profondeur de la substance contenue dans le récipient et dont on fait varier la hauteur en ajoutant peu à peu du liquide.

L'éclairage se produit au moyen du miroir et, avec le spectroscopie à vision directe, on examine la solution colorée à des épaisseurs progressives. On peut employer dans le même but de gros tubes de verre à fond plat, ou des tubes fermés par une rondelle de verre lutée avec un ciment convenable pouvant résister à l'action de l'alcool.

Des appareils plus compliqués, mais dans lesquels les mouvements sont exécutés mécaniquement, ce qui rend les mensurations de l'épaisseur plus faciles à déterminer exactement en même temps que l'on peut faire varier l'épaisseur dans les deux sens en plus ou en moins, sans ajouter ni retrancher de liquide, ont été désignés sous le nom de *spectroscopes pour l'observation d'un liquide sous des épaisseurs variables*, par les premiers constructeurs.

Moitessier a figuré l'appareil construit par Hoffmann dans *Éléments de physique appliquée à la médecine et à la physiologie optique*, p. 257, G. Masson, 1879.

Plus tard, Yvon a fait construire, par Duboscq,



un *spectromètre à épaisseur variable*, qui présente une disposition analogue au précédent appareil, et qui est décrit dans le *Manuel clinique de l'analyse des urines* d'Yvon, 4<sup>e</sup> édition,

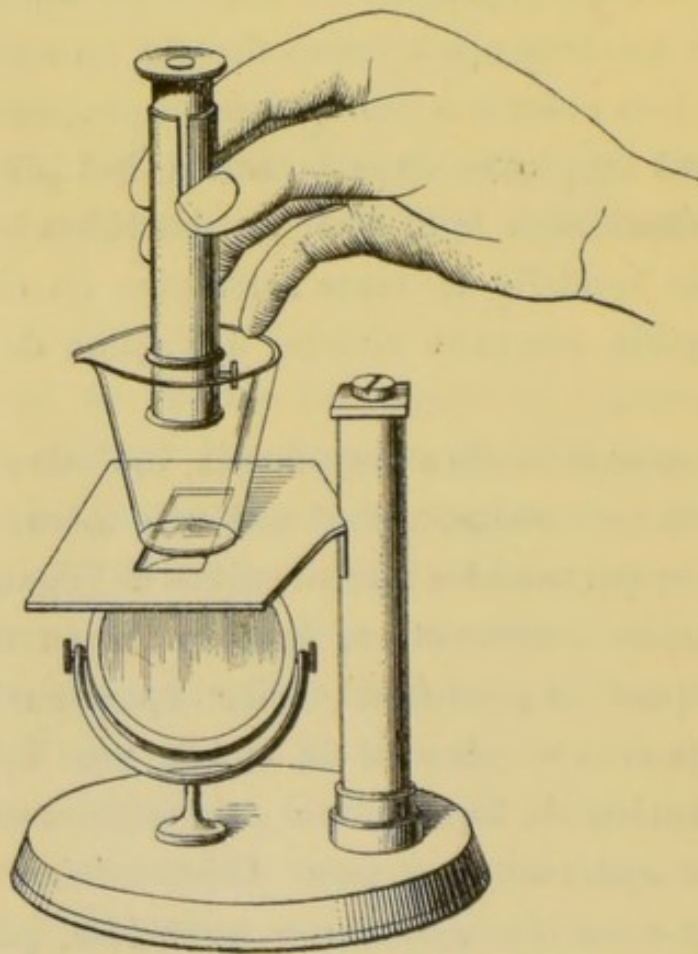


Fig. 12. — Examen spectroscopique à des épaisseurs variables.

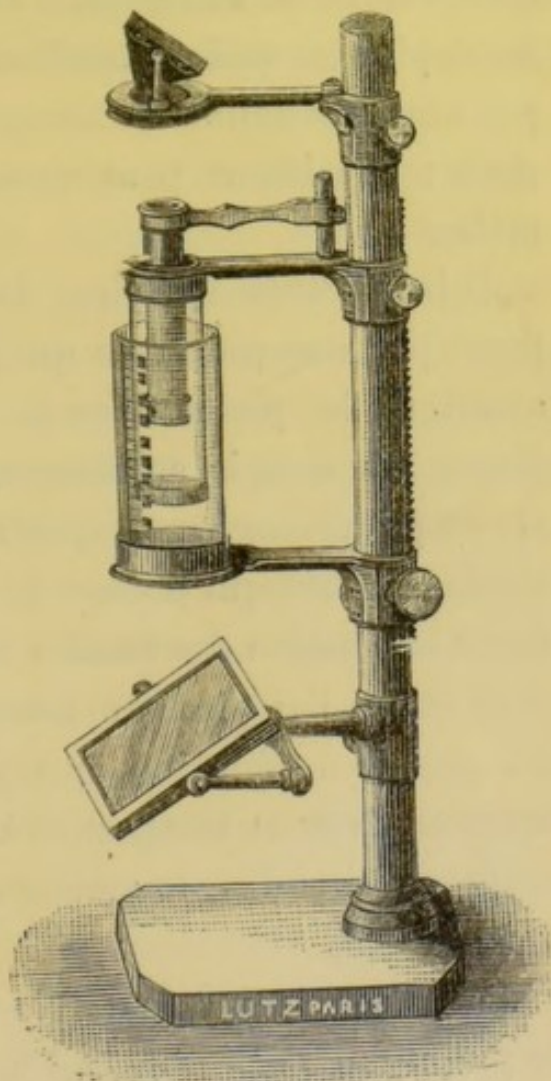
1893 (p. 261). Avec cet instrument, on peut examiner les liquides à des épaisseurs variant entre 0 et 70 millimètres.

Cette épaisseur est insuffisante dans bien des cas où l'on examine des liquides ou des humeurs

faiblement colorées, l'urine en particulier, c'est pourquoi j'ai employé un dispositif qui permet d'obtenir une épaisseur de liquide plus grande que les autres spectroscopes analogues. Cet appareil, que j'ai fait construire en 1890, est représenté par la *fig. 13*.

Il est essentiellement constitué par une haute tige quadrangulaire fixée sur un pied solide et qui supporte les organes optiques :  
1° un large miroir ;  
2° un large tube ou cuvette cylindrique qui reçoit

le liquide à examiner ; 3° un tube cylindrique d'épaisseur moindre, entrant dans le précédent, et qui est fermé par une plaque de verre bien transparente et soudée à la face infé-



*Fig. 13.* — Urospectroscope.



rieure du tube ; ce cylindre est destiné à recevoir le spectroscope, il est mobile dans le gros tube au moyen d'une vis à crémaillère et, suivant qu'il s'élève ou s'abaisse, il circonscrit des épaisseurs plus ou moins étendues, et qui se mesurent par une graduation établie sur le cylindre extérieur ; l'épaisseur peut varier de 0 à 10 centimètres ;

4° le spectroscope placé dans ce tube est supporté par une pince, ce qui permet de le régler avant de le placer dans le tube. On peut employer un simple spectroscope à vision directe, et, de préférence, mon spectroscope à échelle latérale graduée qui permet de déterminer exactement la position des bandes observées ;

5° enfin, j'ai placé au-dessus du spectroscope un prisme à réflexion, qui permet d'examiner horizontalement les spectres à travers le spectroscope à vision directe maintenu dans sa position verticale.

J'ai donné à cet appareil le nom d'uroscope en le présentant, dès 1889, à l'Exposition de la Société de Physique (séance de Pâques), mais il représente, en réalité, un dispositif de spectroscope d'absorption universel ou polyspectroscope.

M. Gautrelet a récemment fait connaître un spectroscope à épaisseur variable dans lequel la

mensuration de l'épaisseur peut se faire sur le disque qui sert de pied au spectroscope et qui présente des divisions auxquelles, d'ailleurs, correspondent des quantités relatives d'urobiline et d'uroérythrine calculées et disposées en une table de concordance.

Cet uropigmentomètre a été appliqué par Gautrelet au dosage de l'urobiline et de l'uroérythrine dans un très grand nombre d'analyses. Enfin, si l'on avait besoin d'examiner des solutions très diluées de sang ou d'autres matières colorantes, on pourrait utiliser l'hémaspectroscope de M. Maurice de Thierry, qui est disposé pour examiner les liquides dans un tube analogue aux tubes servant à l'analyse polarimétrique, et dont la longueur peut être portée à 50 centimètres et au-delà même.

Tous ces dispositifs présentent des avantages spéciaux, suivant l'objet des études spectroscopiques, mais, pour l'étudiant ou le praticien, le procédé le plus simple est celui qui est décrit au début de ce paragraphe, et qui peut suffire longtemps à l'éducation des spectroscopistes et aux recherches cliniques.

---



## CHAPITRE VII

---

### MICROSPECTROSCOPIE

**Microspectroscopes.** — Les microspectroscopes sont les instruments qui servent à observer à l'aide du spectroscope, l'image d'un objet amplifié par l'objectif d'un microscope.

L'idée première qui a été l'origine de ce procédé d'analyse spectrale était en quelque sorte la proposition inverse, c'est-à-dire que les premiers observateurs ont cherché à examiner, à l'aide du microscope, le spectre produit par un spectroscope, et aussitôt que les premiers travaux de spectroscopie furent connus, Hoppe-Seyler (1862), puis Valentin, 1863, étudièrent l'action des diverses parties du spectre sur des préparations microscopiques ; ils recevaient, sur le miroir du microscope, la lumière produite par une portion déterminée du spectre fournie par le spectroscope ; Preyer, en 1866, à l'aide d'un dispositif

analogue, put observer les bandes d'absorption de la matière colorante du sang ou des globules rouges du sang, et l'action de l'acide carbonique sur ces éléments.

Ces procédés de recherches offraient de grandes difficultés et ce n'est que depuis la découverte des spectroscopes à vision directe que la microspectroscopie est devenue d'un emploi facile.

Le microspectroscope de Sorby et Browning peut être pris comme type des instruments de ce genre. Il se compose essentiellement de trois parties distinctes, un tube supérieur et un tube inférieur séparés par un tambour métallique.

Le tube supérieur est un spectroscope à vision directe, fermé par un oculaire rendu mobile à l'aide d'une vis qui permet la mise au point de l'image spectroscopique, le tube inférieur est lui-même garni d'une lentille plan convexe analogue à la lentille d'un oculaire de microscope. Le tambour comprend trois parties distinctes, le diaphragme, un petit prisme de comparaison et une ouverture latérale. Le diaphragme est disposé de façon à pouvoir donner une fente très réduite, il est actionné par un verrou qui permet, en outre, de supprimer à volonté les rayons lumineux du petit prisme de comparaison. Celui-ci, en effet, est placé sous le diaphragme et vis-à-



vis de l'ouverture latérale, de façon qu'il peut transmettre, en les dispersant, soit les rayons lumineux venant de l'éclairage du microscope, soit les rayons émanant de l'ouverture latérale. Celle-ci est munie d'un tube supportant une loupe et un petit miroir réflecteur.

Pour mesurer la position et l'étendue des bandes d'absorption, une échelle photographique est adaptée au tube supérieur, elle est munie d'une lentille actionnée par une vis pour la mise au point.

Les microspectroscopes de Nachet, d'Hartnack, celui que Fumouze a fait construire par Lutz, enfin celui de Zeiss sont analogues au type Sorby et Browning.

Le microspectroscope de Zeiss est le plus perfectionné de tous ; le tube supérieur est divisé en deux parties, de sorte qu'il supporte à la fois le spectroscope et un oculaire microscopique, mobiles indépendamment l'un de l'autre, ce qui permet de mettre d'abord au point avec l'oculaire la partie précise de la préparation que l'on veut examiner, et de superposer la partie spectroscopique sans modifier en rien la position de la préparation.

On peut facilement, avec cet appareil, examiner une couche de sang composée de globules

rouges isolés ou disposés en piles de monnaie, et vérifier ce fait que j'ai démontré, à savoir qu'une pile de globules du sang étalée de façon que trois à quatre globules soient superposés, montre les deux bandes de l'oxyhémoglobine (voir p. 141).

**Microspectroscope simplifié.** — Il est possible, avec un peu d'ingéniosité, de remplacer les microspectroscopes par un simple spectroscopé à vision directe, auquel on fait un manchon de carton qui permet de l'introduire dans le tube d'un microscope quelconque, et de l'y maintenir en position fixe. Dans ce cas, il faut d'avance mettre au point l'image de la préparation, à l'aide d'un oculaire, que l'on enlève pour introduire le spectroscopé à vision directe qui a dû être préalablement réglé et mis au point. Si l'on se sert du spectroscopé à échelle latérale, on peut déterminer la position et l'étendue des bandes.

Cette disposition, très simple, ne donne pas de spectre de comparaison, mais elle est suffisante pour un grand nombre de cas.

On peut employer pour le microscope des objectifs variant entre les n<sup>os</sup> 2, 3, 6 et 7 de Nachet, Hartnack, Véric, Leitz, Zeiss ; mais les forts grossissements ne sont pas nécessaires dans la plupart des cas, et, comme principe général,



il faut se borner à rechercher le grossissement qui suffit à bien délimiter la partie de la préparation que l'on veut observer ; par exemple, pour un vaisseau, il suffira des objectifs de 2 à 4, pour des globules rouges isolés, il faudra atteindre 5 ou 6 et, si l'on veut avoir l'ensemble de coloration d'objets plus ou moins compliqués, par exemple, de petits insectes, des vers, des larves, on bien étudier les phénomènes de la circulation dans les larves de batraciens, dans la patte de la grenouille, il y a tout avantage à se contenter de grossissements très faibles, 40 diamètres et même moins.

C'est ainsi qu'on en arrive à se servir de la *loupe*, c'est-à-dire à examiner au spectroscope des objets grossis par la loupe.

Le dispositif est alors des plus simples, il y a tout avantage à se servir de porte-loupes à dissection, qui présentent une large platine, et un miroir à réflexion.

L'objet à examiner étant placé sur la platine, on met la loupe au point et on applique, sur la loupe même, la face inférieure du tube d'un spectroscope à vision directe.

Ce dispositif peut être varié, suivant les microscopes ou porte-loupes que l'on possède. Je ne crois pas qu'il ait été employé en dehors de mes

observations, mais il rendra de réels services surtout dans les études spectroscopiques des organes et des tissus des animaux inférieurs.

**Microspectroscopie du sang** (*Hématoscope micrométrique*). — Il est quelquefois difficile de délimiter, dans des préparations histologiques, le point à examiner au spectroscope ; de plus, pour les humeurs renfermant des éléments figurés et tout particulièrement le sang, le lait, puis les hémolymphes, on ne peut quelquefois en recueillir que quelques gouttes, c'est pourquoi il est important de pouvoir examiner successivement des préparations microscopiques avec le spectroscope et avec le microscope, et de pouvoir faire varier l'épaisseur de la couche observée. Avec l'hématoscope ordinaire, l'épaisseur de la lame de verre supérieure ne permet pas l'emploi de grossissements nécessaires pour l'étude des variations de diamètre et de forme que présentent les globules rouges.

Pour répondre à ces indications, j'ai fait construire des *hématoscopes* dénommés *micrométriques*, dont la lamelle supérieure est aussi mince qu'il est possible de la préparer régulièrement en lui laissant une solidité suffisante, elle a une épaisseur de deux dixièmes de millimètre.



En outre, l'angle dièdre formé par les deux lamelles est réduit à l'état capillaire, en effet, les deux lamelles s'écartent au plus de 100 micra et la pente est de trois cinquièmes de millièrne de millimètre, soit 1 micra 66 par millimètre au lieu de 5 micra que présente l'hématoscope ordinaire. L'hématoscope micrométrique porte aussi des divisions millimétriques, de sorte que l'on peut toujours calculer l'épaisseur du liquide correspondante au point situé sous une division donnée. Il suffit pour cela de multiplier par 1,66 le chiffre de l'échelle millimétrique, par exemple à 10 millimètres, l'épaisseur est de 16 micra, à 14 millimètres elle est de 23 micra. En résumé, dans l'hématoscope micrométrique, les espaces sont trois fois moins épais que dans l'hématoscope ordinaire, il en résulte que le champ observable au microscope est bien plus étendu et que l'on peut y examiner le sang ou les humeurs avec des grossissements de 500 à 600 diamètres et même davantage.

J'ai publié, dans les *Archives de physiologie* <sup>(1)</sup>, et présenté à la Société de biologie, les premiers résultats que j'ai obtenus à l'aide de l'examen simultané du sang avec le microscope

---

(1) *Archives de physiologie*, n° 3, juillet 1891.

et avec l'hématoscope simple, et enfin avec l'hématoscope micrométrique. Ce mémoire est accompagné de planches chromolithographiques intéressantes à consulter.

Je reproduis ici, comme exemple, une analyse facile à répéter :

Quelques gouttes du sang d'un homme, contenant 12 % d'oxyhémoglobine (quantité déterminée préalablement par une analyse hématoscopique ordinaire), sont introduites dans un hématoscope micrométrique.

Je détermine d'abord, en examinant avec le spectroscope à vision directe, le point d'apparition des deux bandes de l'oxyhémoglobine, il correspond à la division 20 millimètres, c'est-à-dire à une épaisseur de 33 micra, ensuite, le point où l'on perçoit le phénomène des deux bandes égales, il correspond à 48 millimètres, c'est-à-dire à une épaisseur de 80 micra. Ce premier examen fait donc constater que le sang renferme 12 % d'oxyhémoglobine, puisque c'est à cette épaisseur que l'on observe les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine dans le sang, contenant cette proportion d'oxyhémoglobine, ainsi que je l'ai établi dans mon échelle hématoscopique (*Spectroscopie du sang*, p. 80).

Il faut maintenant pratiquer l'examen histolo-



gique de ces diverses régions et des espaces qui les séparent et, pour cela, il suffit de placer l'hématoscope comme une préparation microscopique, employant d'abord un grossissement de 150 diamètres pour arriver à 600 diamètres, ce qui est produit par le n° 5 de Nachet et le 7 de Leitz ou tous autres objectifs analogues.

Or, sous les divisions comprises entre six et neuf millimètres les globules rouges sont disposés à plat en couche plus ou moins continue, mais alors même qu'ils sont disposés les uns contre les autres, si on examine avec le spectroscope, on ne voit pas encore les deux bandes de l'oxyhémoglobine.

Dans les parties suivantes, à mesure que l'épaisseur augmente, les globules se réunissent en colonnettes ou en piles de monnaie, celles-ci d'abord écartées, laissant entre elles des rivulations où flottent des globules rouges et où l'on peut reconnaître les globules blancs, les hématoblastes et les microcytes ; mais sous le trait millimétrique 20, soit à 32 micra d'épaisseur, les piles se réunissent en formant des chapelets qui rappellent ceux des spores de levure ou des grains de vermicelle. C'est à ce niveau que l'examen spectroscopique montre l'apparition des deux bandes de l'oxyhémoglobine, sous forme

de deux bandes faiblement obscures mais caractéristiques par leur position.

Enfin, poursuivant l'examen histologique à une épaisseur plus grande, on voit les globules se réunir en petits amas, en groupes compacts, arrondis, qui présentent de petits mamelons ou amas de globules plus épais séparés par des vallonnements qui comprennent eux-mêmes plusieurs couches de globules rouges, cette disposition rappelle celle d'une couche mince de gelée de confitures de groseilles étalée dans une assiette. Or, cet aspect est caractéristique au niveau de 48 millimètres, c'est-à-dire au point même où le spectroscope montre le phénomène des deux bandes noires et égales en longueur d'onde, caractéristique de la quantité de 12 % d'oxyhémoglobine à ce niveau de 48 millimètres où l'épaisseur de la couche de sang est de 80 micra.

J'ai répété et contrôlé cette expérience, et ces recherches m'ont permis d'établir les conclusions suivantes

« Il existe pour le sang pur, examiné sous des épaisseurs variables, trois modes de disposition ou de tassement des globules rouges auxquels correspondent les phénomènes spectroscopiques différents : 1° Les globules rouges en couche



simple ne présentent pas les réactions de l'oxyhémoglobine ; 2° les globules disposés en piles de monnaie, les globules superposés, au nombre de trois ou quatre, laissent apercevoir les deux bandes de l'oxyhémoglobine faibles mais bien reconnaissables ; 3° les globules agglutinés en amas, sous une épaisseur de 15 à 20, présentent l'aspect spectroscopique auquel j'ai donné le nom de « phénomène des deux bandes caractéristiques ».

En d'autres termes, *l'hématie vue à plat ne forme pas une couche d'oxyhémoglobine reconnaissable au spectroscope, mais vues de champ ou disposées en piles, les hématies forment une couche d'oxyhémoglobine suffisante pour montrer les deux bandes de l'oxyhémoglobine.*

C'est en me basant sur des recherches et sur des calculs appropriés que j'ai pu établir qu'il est possible d'apprécier par la différenciation spectroscopique d'une seule bande visible à deux bandes visibles une quantité d'oxyhémoglobine, égale à 6 millionièmes de milligramme (*Étude microspectroscopique du sang*).

J'ajoute, pour terminer cet exposé, que l'hématoscope microspectroscopique constitue une chambre humide (surtout si on lute les bords

avec de la paraffine), qui permet d'étudier les phénomènes de coagulation du sang ou autres humeurs. C'est ainsi que j'ai observé la coagulation du sang bleu des crustacés et les modifications des globules et autres éléments qui l'accompagnent. La coagulation du lait s'observe facilement dans l'hématoscope micrométrique, il en est de même des sérosités et, en général, des humeurs contenant des éléments figurés.

*Application de l'hématoscope micrométrique au dosage de l'oxyhémoglobine.* — J'ai démontré que cet appareil peut remplacer l'hématoscope ordinaire pour le dosage de l'oxyhémoglobine par le spectroscope, et qu'il suffisait, pour connaître la quantité d'oxyhémoglobine correspondante au numéro de l'échelle millimétrique où l'on observe le phénomène des deux bandes caractéristiques, de se servir de l'échelle ordinaire, en se rappelant que les épaisseurs observées sont trois fois moindres dans l'hématoscope micrométrique que dans l'hématoscope ordinaire. Par exemple, le sang contenant 14 % d'oxyhémoglobine montrant, d'une part, dans celui-ci, les deux bandes caractéristiques à 14 millimètres de l'échelle ou 70 millièmes de millimètre, montrera, d'autre part, dans l'hématoscope micrométrique, ces deux bandes nettes à 42 milli-



mètres de l'échelle, c'est-à-dire à la même épaisseur de 70 millièmes de millimètre. Pour du sang anémié, il n'y a pas avantage à employer cet appareil parce que dans le sang présentant 9,5 % d'oxyhémoglobine, les deux bandes caractéristiques sont à 60 millimètres, c'est-à-dire à la limite de la cuve.

Il n'en est plus de même lorsqu'on observe du sang, très chargé d'oxyhémoglobine, comme dans la pléthore, et aussi très souvent chez les nouveau-nés, et enfin, dans certains états de concentration du sang, comme par exemple le produit l'anesthésie chloroformique dans les opérations chirurgicales<sup>(1)</sup>.

Plusieurs observateurs examinant le sang des nouveau-nés au moyen de l'hématospectroscope, ont eu l'occasion d'observer les deux bandes caractéristiques à 13 et 12 millimètres, c'est-à-dire à une épaisseur indiquant une quantité d'oxyhémoglobine de 15 ou 16 %. Or, l'échelle hématoscopique que j'ai établie ne s'étend pas en deçà de 13 millimètres, soit à une épaisseur de 66 millièmes de millimètre correspondant à 15 % d'oxyhémoglobine.

---

(1) HÉNOCQUE et BAZY. — *Spectroscopie du sang en chirurgie. Compte-rendu du Congrès de chirurgie*, p. 526.

D'ailleurs, des constatations du même ordre ont été faites par diverses méthodes, la numération des globules rouges donne très souvent des chiffres 5 500 000 et atteignant 5 800 000 et même 6 000 000, 6 250 000, 6 260 000 (Dupérié), 6 900 000 (Otto) <sup>(1)</sup>. Hayem a constaté que la richesse globulaire ordinaire chez le nouveau-né est de 1,10.

L'importance de ces observations m'a amené à compléter l'échelle hématoscopique pour les chiffres inférieurs à 14 millimètres. Une difficulté se présentait, car il ne fallait pas songer à faire des solutions d'oxyhémoglobine d'une concentration aussi prononcée. J'ai résolu le problème en me servant de sang de cobaye et de lapin, défibriné, traité par le fluorure de zinc ou le borate de soude, en définitive, de sang frais dont le contenu en oxyhémoglobine était déterminé avec soin à l'aide de l'hématospectroscope, le sang était déposé dans des tubes et soumis à la centrifugation dans l'appareil centrifuge de Rosenthal de Berlin. Dans ces conditions, les globules sont séparés du sérum sans coagula-

---

(1) Consulter, à ce sujet, les tables d'HERMANN VIERORDT. — *Anatomische Physiolog. und physikal. Daten und Tabellen*. G. Fischer, Iéna, 1893.



tion, il est facile d'obtenir des types de concentrations du sang, à divers titres, et de les examiner dans l'hématoscope de verre ordinaire, en même temps que dans l'hématoscope de verre micrométrique.

Dans une série d'expériences faites avec les D<sup>rs</sup> Tripet et Marcel Labbé, nous avons établi les conclusions suivantes : 1° pour les quantités d'oxyhémoglobine de 15 à 27 %, obtenues par concentration du sang au moyen de la centrifugation, les épaisseurs auxquelles on observe les deux bandes égales sont équivalentes dans l'hématoscope ordinaire et l'hématoscope micrométrique, et, en effet, les limites de l'échelle dans lesquelles on observe les deux bandes caractéristiques sont, pour l'hématoscope ordinaire de 15 à 5 millimètres et, pour l'hématoscope micrométrique de 38 à 23 millimètres.

On peut résumer ces résultats sous la forme d'une échelle qui doit être jointe à celle qui est figurée dans notre premier aide-mémoire (*Spectroscopie du sang*, p. 80 ; voir aussi le présent aide-mémoire, p. 148).

Pour étudier les modifications du sang après la naissance, on pourrait se contenter d'indiquer simplement le chiffre de l'échelle millimétrique de l'hématoscope auquel on perçoit les deux bandes

caractéristiques. Mais il y a intérêt à préciser davantage ; en effet, en deça de 14 millimètres, c'est-à-dire au delà de 14 % d'oxyhémoglobine dans le sang, l'appréciation exacte des deux bandes devient plus difficile et, d'ailleurs, chez le nouveau-né elle peut se compliquer de l'état de cyanose plus ou moins prononcée aux doigts. Les chiffres obtenus sont alors trop forts.

Dans un récent travail, M. Marcel Labbé étudiant l'influence des injections de sérum sur la quantité d'oxyhémoglobine chez les nourrissons dans le service de M. Hutinel, à l'hôpital des Enfants assistés, a trouvé des quantités d'oxyhémoglobine égales à 13,8 à 14, 15, 16 % et au delà ; enfin, l'apparition des deux bandes à 11,3 de l'hématoscope et même à 10,8 chez des nouveau-nés. Dans ces derniers cas, la cyanose devait être très prononcée <sup>(1)</sup>.

On sait, d'autre part, que les nouveau-nés présentent un nombre de globules rouges proportionnellement plus considérable que l'adulte ; l'enfant, à sa naissance, a dit Robin, possède

---

(1) MARCEL LABBÉ. — *Des variations de la quantité d'oxyhémoglobine du sang, chez les nourrissons traités par les injections du sérum artificiel*. C. R. Soc. Biol., 22 janv. 1898.



plus de globules qu'il n'en aura jamais à l'âge adulte. La numération des globules a confirmé ce fait. (Cz. p. 145).

Le phénomène des deux bandes caractéristiques étant observé		La quantité d'oxyhémoglobine correspondante
Dans l'hématoscope ordinaire	Dans l'hématoscope micrométrique	
à 13 millimètres	à 39 millimètres	15 0/0
à 12 millimètres	à 36 millimètres	16 0/0
à 11 millimètres	à 33 millimètres	17 0/0
à 10 millimètres	à 30 millimètres	18 0/0

Pour préciser les analyses, il y a avantage à employer l'hématoscope micrométrique parce que l'étendue des espaces à observer avec le spectroscope est, de fait, trois fois plus large que dans l'hématoscope ordinaire, ainsi que le montre l'échelle ci-dessus qui est, en somme, établie expérimentalement avec une approximation suffisante pour les recherches cliniques.

## CHAPITRE VIII

---

### ANALYSE DIAPHANOMÉTRIQUE DU SANG. LACTOSCOPIE AVEC L'HÉMATOSCOPE.

Je réunis dans ce chapitre l'exposé de deux applications importantes de mes cuves hématoscopiques à l'analyse du sang et du lait, l'une fait partie de ma méthode générale d'Hématoscopie, l'autre doit en être rapprochée parce qu'elle procède du même principe et aussi emploie les mêmes instruments.

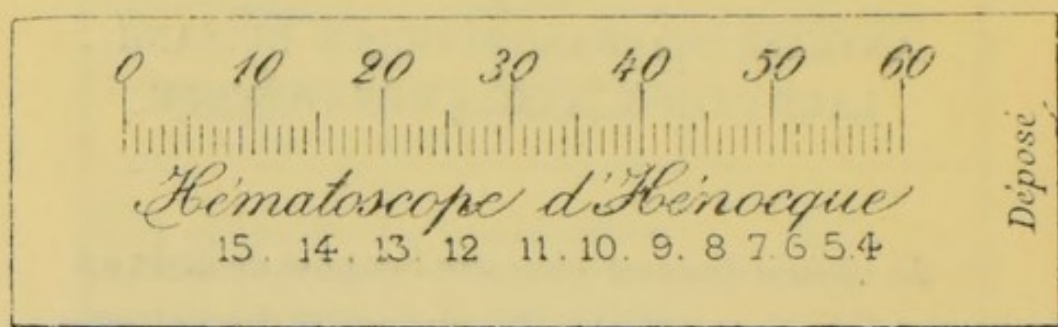
L'expression d'analyse diaphanométrique du sang est préférable à celle d'analyse chromométrique parce que, dans ce procédé, l'on étudie à la fois la transparence et l'intensité de la coloration du sang.

Cette analyse se fait au moyen de la superposition de la cuvette hématoscopique à une plaque d'émail blanc, qui sert d'échelle, la *fig. 14* représente l'une de ces plaques en grandeur na-



turelle ; on y voit une échelle millimétrique des lettres, puis des chiffres.

Lorsqu'on superpose l'hématoscope chargé de sang à la plaque d'émail comme dans la *fig. 15* la partie peu épaisse et peu colorée de sang laisse lire les lettres, les chiffres et les divisions millimétriques, mais les uns et les autres dispa-



*Fig. 14. — Plaque Hématoscopique d'émail.*

raissent dans la partie plus épaisse et plus colorée ; il est évident qu'on lira d'autant plus de lettres et de chiffres que le sang sera moins chargé de matières colorantes.

Pour faire l'analyse, l'hématoscope chargé de sang est appliqué sur la plaque d'émail et maintenu entre le pouce et l'index des deux mains de façon que les échelles millimétriques coïncident exactement, on lit alors certaines lettres distinctement, et au-dessous d'elles les chiffres qui représentent la quantité d'oxyhémoglobine. De plus, en disposant l'hématoscope de verre de façon que le sang se superpose à l'échelle milli-

métrique de la plaque d'émail, on peut noter également le nombre de millimètres nettement visibles, cette constatation est indispensable à faire, car elle indique l'épaisseur à laquelle le sang ne laisse plus voir les divisions et les lettres (on sait que l'épaisseur de la couche observée est appréciable en millièmes de milli-

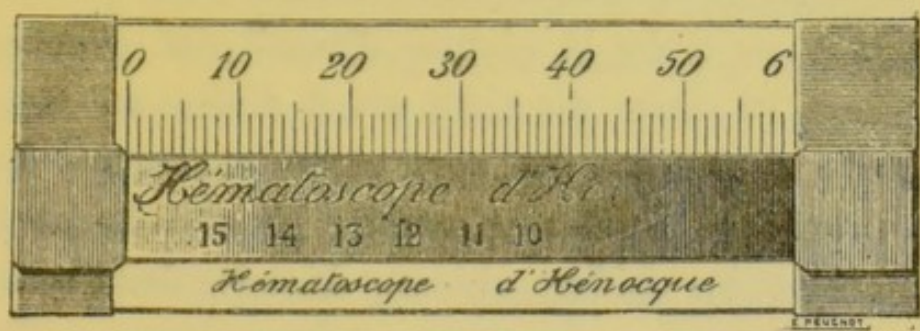


Fig. 15. — Hématoscope superposé à la plaque d'émail.

mètres à raison de 5 micra d'épaisseur pour 1 millimètre de l'échelle).

Dans l'exemple choisi pour la *fig. 15* où il s'agit du sang d'un anémique, on distingue nettement

Les lettres : Hématoscope d'Hé ;

Et les chiffres : 15, 14, 13, 12, 11, 10.

Si l'on transportait l'hématoscope sur les divisions millimétriques, celles-ci seraient confuses ou disparaîtraient entre 38 et 40 millimètres.

Il en résulte que le sang contient 10 % d'oxy-hémoglobine, et aussi que l'échelle millimétrique disparaît à 190 et 200 micra d'épaisseur du sang.



Il y a quelquefois hésitation sur la détermination de la disparition de la transparence, il faut alors faire la *contre-épreuve* ainsi qu'il suit; au lieu de superposer les deux plaques de façon que les 0 des échelles coïncident, on renverse l'hématoscope de droite à gauche et de haut en bas, de manière que le 60 de l'hématoscope corresponde au 0 de la plaque d'émail; la couche mince et claire du sang est à droite au lieu d'être à gauche. On note alors le nombre de millimètres lisibles de droite à gauche. Le plus souvent, les chiffres obtenus dans les deux sens sont identiques, s'ils diffèrent de quelques millimètres, on peut recommencer la lecture dans les deux sens.

Les indications diaphanométriques sont, en général, d'accord avec celles de l'hématospectroscope à quelques millimètres près, c'est-à-dire à environ 1 % de la quantité d'oxyhémoglobine, mais, dans certaines conditions déterminées, il n'y a pas concordance, par exemple, lorsque le sang contient de l'hémoglobine réduite, comme le sang dans la cyanose, le sang veineux; alors les chiffres, les lettres et les divisions apparaissent dans presque toute l'étendue de l'échelle, et d'ailleurs, la coloration est différente de celle du sang artériel ou capillaire; par conséquent, l'exa-

men diaphanométrique est un moyen de reconnaître la présence de l'hémoglobine réduite dans le sang, même lorsqu'elle est en proportion relativement faible. D'autre part, j'ai souvent observé que l'examen diaphanométrique donne une proportion d'oxyhémoglobine dépassant de 1 à 1,5 % celle qu'on obtient avec l'hématospectroscope, dans le sang de malades qui sont en convalescence, chez les anémiques qui suivent la médication ferrugineuse, en général, quand le sang est en rénovation, ce qui tient à la quantité, au volume et à la richesse du globule en hémoglobine, qui a une influence démontrée sur la *translucidité* du sang. D'autre part, au contraire, lorsque le sang est en période de diminution des globules, d'appauvrissement en richesse d'hémoglobine, et, si l'on me permet l'expression, en sénescence, par exemple chez les fébricitants, les anémiques, les gens surmenés physiquement, les cachectiques, et, en particulier, les paludéens, la quantité d'hémoglobine constatée par la diaphanométrie est un peu moindre que celle que donne l'examen hématospectroscopique. Ces faits maintes fois observés par moi ont été aussi constatés par le Dr Linossier et le Dr Tripet <sup>(1)</sup>.

---

(1) TRIPET. — *Hématoscopie pratique chez les paludéens, les ictériques et les cachectiques*. Bulletin de



Ils démontrent en définitive l'utilité d'associer l'examen diaphanométrique à l'examen hématospectroscopique ; d'ailleurs, un hématoscope d'émail est toujours renfermé dans la gaine de l'hématoscope clinique.

**Lactoscopie.** *La lactoscopie avec les hématoscopes* <sup>(1)</sup>. — L'hématoscope de verre et l'hématoscope d'émail peuvent être utilisés pour l'examen clinique du lait, en vertu de ce principe que l'opacité du lait augmente avec sa richesse en globules graisseux. Mais l'opacité peut être modifiée par trois conditions : 1° le nombre des globules graisseux, important au moins par ce fait que, dans la majorité des cas, il suit la marche des autres éléments solides ; 2° la division extrême de ces globules ; 3° la présence de la caséine, surtout la caséine en suspension.

Le lactoscope diaphanométrique n'est autre que l'hématoscope de verre ordinaire que l'on remplit de lait au lieu de sang, le lait s'y étend en couche mince d'une épaisseur graduellement

---

la Soc. médico-chirurgicale de Paris, p. 103, 13 novembre 1893.

(1) HÉNOQUE. — *Notice sur l'hématoscope*, p. 41, Masson, 1886.

GERSON. — *L'examen du lait des nourrices*, J. B. Baillière, 1892.

progressive qui, transparente à 0, devient de plus en plus opaque à mesure qu'on se rapproche de 60.

Pour examiner la transparence du lait placé dans la cuve hématoscopique, on place celle-ci sur la plaque d'émail blanc qui sert d'échelle, pour le dosage diaphanométrique du sang (p. 150).

Lorsqu'on superpose le lactoscope chargé de lait à la plaque d'émail la partie peu épaisse du lait laisse lire les lettres, les chiffres et les divisions en millimètres, mais les uns et les autres disparaissent dans la partie la plus épaisse. Il faut avoir soin que les deux échelles des plaques de verre et d'émail soient superposées, on note alors le nombre de millimètres visibles.

En supposant, par exemple, que, dans l'échelle des millimètres, 40 soit la division, encore nettement visible, on dira que l'échelle disparaît à une distance de 40 millimètres ou sous une épaisseur de  $40 \times 5$  ou 200 micra.

Il résulte de mes observations et des recherches très approfondies faites par le Dr Gerson avec des analyses exactes de laits de vache et sur le lait de nourrices en des conditions très diverses, que mon procédé de lactoscopie peut renseigner avec une approximation suffisante sur la



valeur d'un lait. Les données du lactoscope concordent avec la marche générale de la sécrétion du lait, et les indications qu'il fournit peuvent être un précieux auxiliaire pour déterminer la cause d'un état de malaise. « Ce procédé est plus  
« facile, plus rapide et au moins aussi exact  
« qu'aucun autre pour juger de la valeur re-  
« lative de deux laits <sup>(1)</sup>.

« Un lait physiologique, chez une bonne nour-  
« rice, doit marquer au lactoscope 47, et par con-  
« séquent doit être opaque sous une épaisseur de  
« 235 micra. C'est là une moyenne dont un lait  
« normal ne doit pas s'écarter, notablement au  
« moins, du troisième au sixième mois... Toutes  
« les fois que l'opacité d'un lait ne sera pas com-  
« prise entre les divisions 42 et 53, l'examen de  
« la nourrice, indispensable dans tous les cas,  
« devra être alors beaucoup plus minutieux et  
« le médecin ne devra pas se contenter d'un  
« essai isolé. Il devra surveiller de près le nour-  
« risson et si son développement ne se fait pas  
« d'une façon régulièrement progressive, il ne  
« devra pas hésiter à conseiller le changement  
« de la nourrice (Gerson) ».

---

(1) GERSON. — *L. c.*, p. 94 et 95.

---

## CHAPITRE IX

—

### SPECTROPHOTOMÉTRIE

Dans le premier volume de Spectroscopie biologique, je me suis borné à donner la définition des spectrophotomètres et à en citer les principaux types, parce que leur usage ne se prête pas aux analyses simples, physiologiques ou pathologique auxquelles j'ai voulu consacrer ces aide-mémoire. On en trouvera l'exposé général dans les aide-mémoire de M. Lefèvre <sup>(1)</sup>. Tous ces appareils sont très compliqués, difficiles à régler, et absorbent une quantité considérable de lumière.

Il n'est pas de même du *spectrophotomètre différentiel sans polarisation*, du professeur d'Arsonval.

Cet appareil est essentiellement constitué par un double photomètre à lentilles, rendu différentiel et qui est adapté en avant de la fente du

---

<sup>(1)</sup> LEFÈVRE (J.). — *La Spectroscopie et La Spectrométrie*. Encyclopédie des Aide-mémoire, Gauthier-Villars et Masson, éditeurs.



spectroscopie ordinaire. Il est basé sur cette propriété des lentilles, signalée pour la première

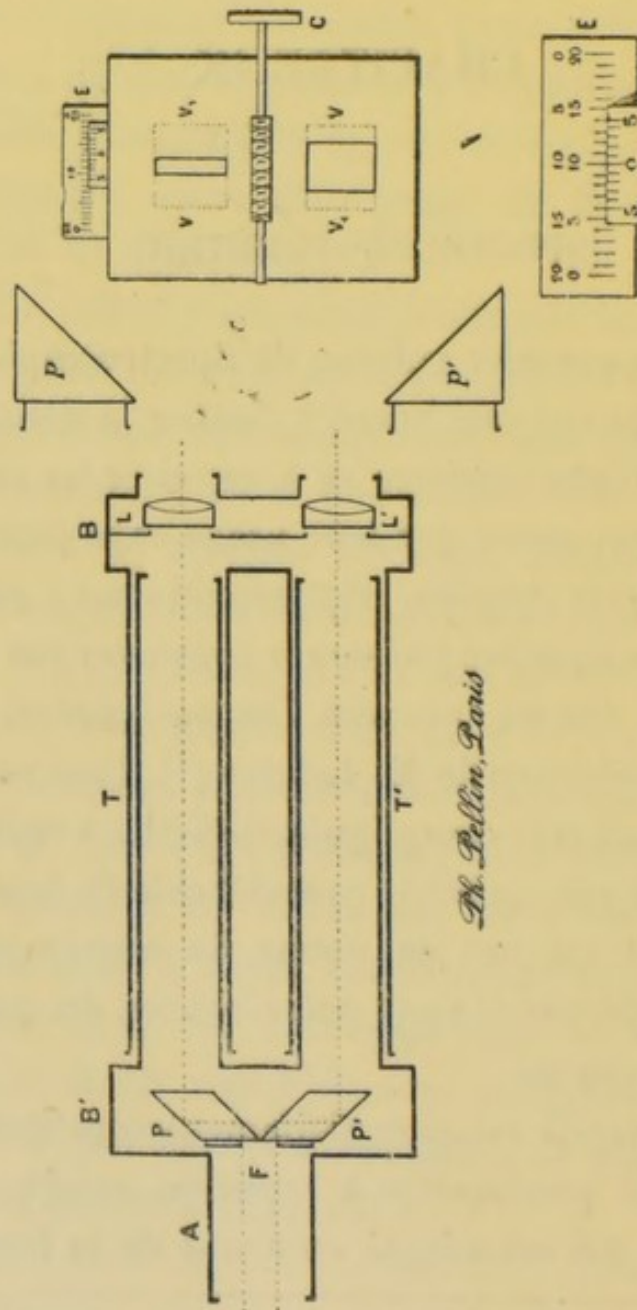


Fig. 16. — Spectrophotomètre de d'Arsonval, schéma.

fois par Bouguer, à savoir que l'image focale est, comme forme indépendante de la grandeur

et de la forme de l'ouverture de la lentille, et *comme éclat proportionnelle* à la surface de cette ouverture.

La partie photométrique, proprement dite, se compose (*fig.* 16 et 17) de deux tubes parallèles superposés T, T', réunis à leur partie antérieure par une boîte métallique B, dans laquelle joue un système de deux volets mobiles V, V', qui limitent deux ouvertures rectangulaires de largeur variable dont les centres coïncident toujours avec l'axe des tubes T, T'.

En face de chaque tube, de l'autre côté des volets mobiles, se trouvent deux lentilles achromatiques semblables L, L'. En face de la lentille inférieure L' se place la cuve transparente K, contenant la solution colorée qu'on veut analyser. Les tubes T, T' sont réunis à leur extrémité postérieure par une boîte B' qui porte deux parallélipèdes transparents P, P', réunis suivant une de leurs arêtes. Perpendiculairement à cette arête commune se trouve la fente du photomètre F, coïncidant avec le diamètre vertical du tube A. Cette fente est à lèvres mobiles et peut être rétrécie à volonté, grâce au bouton moleté M'. Un second bouton moleté M permet d'amener l'arête commune aux parallélipèdes P, P', à couper la fente F du photomètre en



deux parties d'égale hauteur. Le bouton moulé C, qui fait mouvoir les volets mobiles V, V', V'', porte une échelle micrométrique E qui a une division chiffrée dans deux sens avec vernier double donnant par une simple lecture *le rapport des surfaces* que les volets découvrent respectivement sur les lentilles L et L', c'est-à-dire *le rapport des quantités de lumière* qui traversent à chaque instant respectivement chacun des tubes T et T'. Tout le système se fixe sur un pied à trois branches qui vient se visser en S.

Cela établi, supposons qu'on adapte en A un spectroscope quelconque (*fig. 17*), après en avoir enlevé la fente, qui se trouvera remplacée par la fente F, et dirigeons les lentilles L, L', vers une surface uniformément éclairée, une feuille de papier blanc J, par exemple. Le fonctionnement de l'appareil est des plus facile à comprendre. La moitié supérieure de la fente F sera éclairée par la lentille L, le faisceau lumineux ayant subi une double réflexion dans le prisme P; il en sera de même pour la moitié inférieure de la fente qui recevra sa lumière de la lentille L', grâce au prisme P'. La fente F se trouve à peu près au foyer principal des lentilles L, L'. Si le volet V est au milieu de sa course, les lentilles L et L' sont également découvertes, elles laissent

passer la même quantité de lumière, et, comme tout est symétrique dans l'appareil, on obtient

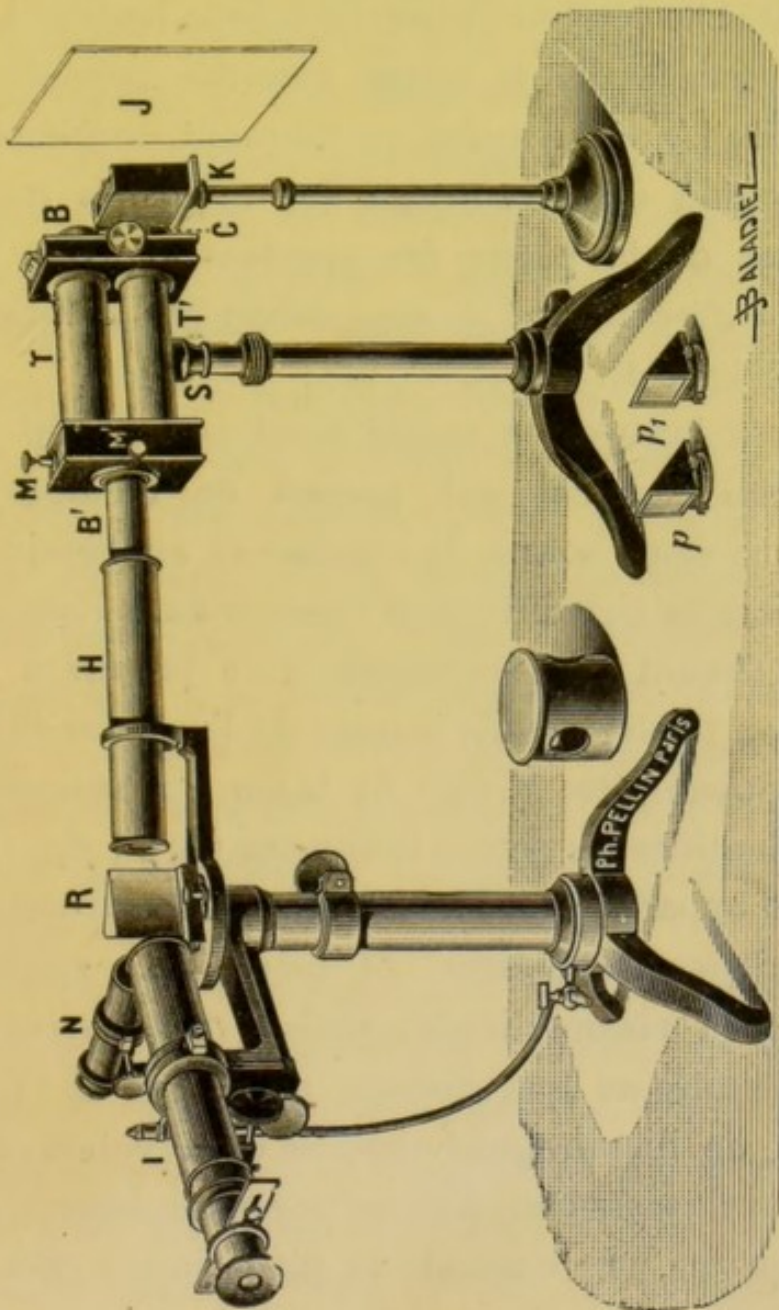


Fig. 17. — Spectrophotomètre de d'Arsonval. — Disposition pour l'analyse spectroscopique.

deux spectres également éclairés. Si l'on interpose alors en L' la solution colorée, on éteint



certaines radiations dans le spectre inférieur. Pour ramener l'égalité dans les deux spectres, il suffit de rétrécir l'ouverture de la lentille L et d'augmenter de la même quantité celle de la lentille L', ce qui se fait en tournant simplement le bouton C. Le *rapport* des intensités lumineuses de la partie des spectres analysée est donné *directement* et sans calcul par la lecture de l'échelle E.

M. d'Arsonval a ajouté à cet instrument un perfectionnement qui permet de n'employer qu'une seule source lumineuse et au besoin la lumière solaire diffuse, il consiste dans l'adjonction devant chaque lentille d'un prisme à réflexion totale, mobile autour de l'axe des tubes et pouvant être dirigé de façon à transmettre aux lentilles les rayons lumineux ( $p, p'$ , fig. 17).

Cet appareil peut être adapté aux spectroscopes chimiques ordinaires, et même aux spectroscopes à vision directe, mais il est important d'adjoindre au spectroscope, au niveau de l'oculaire, un diaphragme composé de 2 volets mobiles qui permettent d'isoler une plage déterminée du spectre, par exemple la plage jaune vert ou verte pour le sang, et si l'on veut arriver à une réelle précision, il faut pouvoir déterminer, avec l'échelle spectrométrique, une portion du spectre

correspondante, par exemple, de 590 à 570  $\lambda$  pour la bande  $\alpha$  de l'oxyhémoglobine 550 à 530  $\lambda$  pour la bande  $\beta$ . Ou bien 590 à 530  $\lambda$  pour l'hémoglobine réduite. La sensibilité de l'appareil est telle qu'il faut pour les comparaisons de solutions colorées employer des cuves de verre absolument semblables et de même composition. Dans nos cuves ordinaires, l'absorption des verres était égale à 0,50 ou une demi-division.

Lorsqu'il s'agit de mesurer simplement l'absorption d'une solution colorée, on se servira, avec avantage, d'une cuvette spectroscopique assez haute pour que, la lentille inférieure correspondant à la couche colorée, qui ne remplit que la moitié de la cuvette, la lentille supérieure corresponde à la partie vide de la cuvette. Dans ces conditions, on néglige l'absorption par les verres.

Le mode d'éclairage peut être très varié, on peut placer en avant des lentilles un écran blanc, ou bien un écran d'opale qui réfléchisse la lumière diffuse. Cette disposition convient surtout pour des études comparatives faites avec la lumière solaire ; dans ce cas, la position des bandes de Fraunhofer est facile à déterminer et peut remplacer l'usage de l'échelle spectrométrique latérale.



Cependant, avec les spectroscopes chimiques, ou tous les spectroscopes possédant une échelle spectrométrique, la lumière artificielle est préférable, celle de la lampe à pétrole ou, mieux encore, celle du gaz ; mais, dans ces cas, il faut bien veiller à ce que la lumière transmise aux lentilles corresponde à un même point de la flamme pour les deux, et la vérification doit toujours être faite plusieurs fois pendant les recherches. Cette constatation est facile à faire, il faut mettre l'échelle du photomètre à 0 et alors les deux images superposées doivent avoir une intensité absolument égale dans tout le spectre ou dans une région déterminée.

Il sera préférable d'employer comme éclairage un bec Auer assez élevé pour que les deux lentilles reçoivent les rayons moyens du panier lumineux. On obtient ainsi un éclairage régulier.

J'ai fait avec le spectrophotomètre des recherches en vue de déterminer, pour les principales matières colorantes de l'organisme, le coefficient d'absorption correspondant à des solutions titrées, je ne puis encore en publier les résultats, mais il est une constatation fort importante au point de vue de ma méthode hématoscopique, à savoir que toute solution de sang qui, à une

épaisseur quelconque, présente, d'une part, le phénomène spectroscopique des deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, correspond, d'autre part, une sorte de constante d'absorption à l'échelle du spectrophotomètre égale à 19, c'est-à-dire les dix-neuf vingtièmes de l'absorption totale dans cet appareil éclairé par un bec Auer placé à 10 centimètres de la cuvette.

D'autres phénomènes spectroscopiques du sang, en particulier le moment de l'apparition de la première bande  $\alpha$ , semblent également varier dans des limites très circonscrites. Voici d'ailleurs les premiers résultats obtenus dans des recherches faites avec le Dr Tripet.

Dans une dilution de sang examinée dans une cuvette de 1 centimètre d'épaisseur, avec le spectroscope à vision directe, et à la lumière solaire, ou avec le bec Auer, on voit apparaître la *première bande  $\alpha$*  avec une quantité d'oxyhémoglobine égale à 0gr,00011 et variant de 0,00011 à 0,00016.....

L'absorption correspondante varie alors de 11 à 14 divisions de l'échelle spectrophotométrique suivant le mode d'éclairage, par exemple 11 avec la lumière solaire, 14 avec le bec Auer.

Dans une dilution de sang moins étendue, sous une épaisseur de 1 centimètre, les *deux bandes caractéristiques* se montrent avec des quantités d'oxyhémoglobine de 0gr,0008 à 0gr,0009.....

Les chiffres de l'échelle photométrique donnent pour l'absorption 16 à 19 avec la lumière blanche diffuse et 19 avec le bec Auer.



En résumé, des variations de la quantité d'oxyhémoglobine en dilution de 1 à 10, dix millièmes nous ont donné à l'échelle spectrophotométrique des variations entre 11 vingtièmes et même 19,66 or, comme la quantité d'oxyhémoglobine du sang qu'on peut observer varie pour la clinique entre 2 et 15  $\%$ , il en résulte que des variations de 1  $\%$  d'oxyhémoglobine peuvent correspondre à des variations moyennes d'une division et demie. Mais, pour obtenir cette précision, il faut opérer dans des conditions d'éclairage déterminées et absolument identiques et avec une pratique approfondie du maniement de l'appareil.

Le carmin en solution ammoniacale montre des rapports plus simples entre la quantité de carmin et l'absorption.

Le carmin sous une épaisseur de 1 centimètre en solution à 0,0009, soit 9 dixièmes de milligrammes pour 1 gramme d'eau ammoniacale, présente deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, mais non identiques (*fig. 9*, p. 103), l'absorption à l'échelle spectrophotométrique et de 17 à la lumière solaire :

*Une solution*

de 0,0009 donne 17 à l'échelle spectrophotométrique

*Une solution*

de 0,00045 donne 14 à l'échelle spectrophotométrique

*Une solution*

de 0,0002 donne 12 à l'échelle spectrophotométrique

*Une solution*

de 0,0001 donne 11 à l'échelle spectrophotométrique

Ce spectrophotomètre est principalement utilisé pour comparer des solutions à des titres différents et en déduire leur teneur en matière colorante.

Les solutions de carmin citées plus haut nous ont donné les différences d'absorption suivante :

Solutions :  $\frac{0,0009}{0,00045}$  correspondent à 12 vingtièmes.

Solutions :  $\frac{0,0009}{0,0002}$  donnent 16 vingtièmes.

Solutions :  $\frac{0,0009}{0,0001}$  » 18 »

Les solutions au-dessus de la barre sont placées dans la cuvette supérieure.

Les limites de l'absorption varient donc entre 12 et 18 pour des quantités de 1 à 9 (dix-millièmes).

Il est nécessaire de n'employer que des solutions diluées, pour les observer à une épaisseur de 10 millimètres, afin de ne pas dépasser l'extinction totale et parce que, dans les solutions où l'absorption varie entre 10 et 16, il est plus facile d'apprécier la concordance de l'obscurité dans les deux spectres superposés, qui est la partie la plus délicate de l'observation. Pour



étudier deux solutions comparativement, il faut superposer l'une à l'autre deux cuvettes de 1 centimètre d'épaisseur, faites de même verre, on les met alternativement en haut ou en bas pour faire la contre-épreuve. Dans les deux dispositions le chiffre d'absorption doit être le même. Il faut encore, dans le cours des notations, vérifier si la lumière conserve une intensité constante, même lorsqu'on emploie le bec Auer.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

Cet index bibliographique de Spectroscopie biologique est classé par ordre chronologique pour la partie historique et générale. Il m'a semblé utile de classer les documents qui intéressent plus directement la spectroscopie biologique en une série de paragraphes correspondant aux principaux chapitres que contiennent les trois aide-mémoire, et d'ajouter quelques indications sommaires destinées à guider les recherches des débutants dans les études de spectroscopie.

Dans les diverses divisions, les publications sont classées par ordre alphabétique.

### I. BIBLIOGRAPHIE HISTORIQUE

- BUNSEN et KIRCKHOFF. — *Analyse chimique fondée sur les observations du spectre*. Pogg. Ann. CX, 161. Ann. de Chim. et de phys., 3, LXII, 452, 1861 et LXIV, 257, 1862.
- HOPPE-SEYLER. — *Ueber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffes*. Virchow's Archiv. Bd. XXIII, p. 446-449, 1862 ; ibid. Bd. XXIV, p. 22, Zweite Mittheilung, ibid. Bd. XXIX, p. 138, 1864. Dritte mittheilung, ibid. Bd. XXIX, p. 597-600.



- JANSSEN. — *Note sur trois spectroscopes* (spectroscope à vision directe). C. R. Acad. des Sciences, t. XL, 1862, p. 576.
- VALENTIN (G.). — *Der Gebrauch des Spectroskope zu physiologischen und aërztlichen Zwecken*. Leipsick, 1863.
- STOKES. — *On the reduction and oxydation of the colouring matter of the blood*. Proceedings of the Royal Society, 1864, XIII, p. 355.
- BENCE JONES. — *On the chemical circulation in the body*. Proceed. of Roy. Instit. London, 26 may 1865.
- PREYER. — *Quantitative Bestimmung der Farbstoffs im blüte durch das Spectrum*. Ann. der Chemie u. Pharmacie, Bd. CXL, p. 187-200, 1866.
- HÉRAPATH. — *On the Use of the spectroscope und microspectroscope in the discovery of blood stains and dissolved Blood and in pathological inquiries*. Chem. news, 1868, XVII, p. 113, 114. — Analyse par Hénocque in Gazette hebdomadaire de méd. et de chirurg., 1866, p. 292, t. III, p. 292 du 1<sup>er</sup> cas d'emploi médico-légal du spectroscope par Herapath, publié in the Pharmaceutical journal, 1866.
- SORBY. — *On the application of spectrum analysis to microscopical investigations and especially to the détection of bloodstains*. Chemical news, 1865, p. 186, 194, 232, 256.
- *On a definite method of qualitativ analys. of animal and colouring matters by means of the spectrum-microscope*. Proceedings of the Royal Society of London, 1867, t. XV, p. 433.
- THUDICHUM. — *Researches intended to promote an improved Chemical identification of Disease*. Tenth and Eleventh Report of the medical officer of the

- privy Council. London, 1867 et 1868 (nombreux diagrammes et planches en couleurs).
- GAMGEE. — *Researches on the blood, on the action of nitrites on blood*. Proceed. of the Roy. Soc. of Edimb., 1868, p. 589.
- JAFFÉ. — *Beitrage zur Kentniss der Gallen und Harnpigments*. Centralbl. für die Med. Wissensch., p. 241.
- BALLEY. — *Des méthodes à suivre pour rechercher le sang*. Thèse de la Faculté de Méd. de Strasbourg, 1867-1868, n° 100.
- BENOIT. — *Études spectroscopiques sur le sang*. Montpellier, 1869.
- BERNARD (CLAUDE). — *L'asphyxie par les vapeurs de charbon*. Revue des Cours Scientifiques, 1870 et *Leçons sur les anesthésiques et sur l'asphyxie*, 425, Paris, 1875. J. B. Baillière.
- FUMOZE. — *Les spectres d'absorption du sang*. Thèse de Doctorat de Paris, 18 juin 1870. Germer Baillière, (le travail le plus complet et le plus remarquable qui ait été publié en France, sur le sujet, à cette époque, renferme des planches en couleur et des indications techniques très intéressantes).
- ROSENBERG. — *The use of the spectroscope, its application to scientific and practical Médecine*. New-York, 1876 (in-8°, 63 p., 1 pl. 6 fig.).
- VOGEL. — *Praktische Spectral analyse Irdischer stoffe*. Berlin, 1877, Oppenheim.
- Seconde édition en 1888. *Manuel pratique de l'analyse spectrale des substances terrestres*, très riche en documents. Nombreux diagrammes et planches. Ouvrage de haute importance.



- MARCHAND. — *Ueber die Intoxication durch chlorsaure Salze*. Virchow's Archiv. LXXVIII, 455, 1877.
- COULIER. — *Le spectroscope appliqué aux sciences physiques et pharmaceutiques*. t. XXX, p. 541, t. I, p. 21, 118, 319, 393, t. II, p. 18, 221, 285, 376, t. III, p. 126, 220, 403, 545, 1881, V<sup>e</sup> Série.
- MAC MUNN. — *The spectroscope in Medecine*, in-8<sup>o</sup> p. 195. 3 planches chromolithographiques. Philadelphia, 1880. Monographie remarquable et la plus complète qui ait été publiée sur les applications de la spectroscopie à la médecine.
- HÉNOCQUE (A). — Article « Spectroscopie » et « Microspectroscopie » du Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales, 3<sup>e</sup> série t. IX, 1<sup>re</sup> partie, 1881, p. 15 à 37.
- BRANLY. — *Dosage de l'hémoglobine dans le sang par les procédés optiques*. Thèse de Médecine, Paris, n<sup>o</sup> 207, 1882. L'auteur s'est servi d'un spectrophotomètre à faisceaux superposés d'une construction spéciale.
- RANVIER. — *Article sur l'étude spectroscopique du sang, dans la traduction française de Frey*.
- LAMBLING (E.). — *Des procédés de dosage de l'hémoglobine*. Étude comparative des procédés colorimétriques, spectroscopiques et spectrophotométriques.
- HÉNOCQUE. — *Étude spectroscopique de l'action du nitrite de sodium sur le sang, déductions physiologiques, toxicologiques et thérapeutiques*. C. R. Société de Biolog., 1883, p. 669, n<sup>o</sup> 39, t. IV.
- HAYEM. — *Expériences sur les substances toxiques ou médicamenteuses qui altèrent l'hémoglobine et particulièrement sur celles qui la transforment en*

*méthémoglobine*. C. R. Acad. des Sciences, 3 mars 1884, p. 580.

HÉNOQUE. — *Étude du sang à la surface unguéale du pouce*. C. R. Soc. de Biologie, 8<sup>e</sup> série, t. I, p. 671, n<sup>o</sup> 44, 6 décembre 1884.

— *Hématoscope pour l'examen spectroscopique du sang non dilué*. C. R. Soc. de Biologie, 8<sup>e</sup> série, t. II, p. 12, n<sup>o</sup> 1, 11 janvier 1885.

BERTIN-SANS. — *Études sur la méthémoglobine*. J. B. Baillière, 1888, Paris (Nombreux diagrammes, monographie complète).

HÉNOQUE. — *L'hématoscopie, méthode nouvelle d'analyse du sang basée sur l'emploi du spectroscope*. C. R. de l'Acad. des sciences, t. CIII, N<sup>o</sup> 18, p. 817, 2 novembre 1887.

— *Des variations de l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine chez l'homme sain et chez l'homme malade*. C. R. de l'Acad. des Sciences, t. CVI, 9 janvier 1888.

— Articles « Hématoscopie, Hémoglobine, Hémoglobinurie », du Dictionnaire Encyclopédique des Sciences médicales, 1888.

HÉNOQUE et G. BAUDOUIN. — *Des variations de la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de la réduction de cette substance dans la fièvre typhoïde*. C. R. Acad. des Sciences, 23 avril 1888 et Gazette Hebdomadaire.

VAUTHRIN. — *Dosage de l'hémoglobine par la méthode spectroscopique du docteur Hénocque*. Thèse de la Faculté de médecine de Paris, Henri Jouve, 1888.

HÉNOQUE. — *Analyse du sang dans les tissus vivants, analyseur chromatique*. C. R. Soc. de Bio-



logie, 29 octobre, 5 novembre 1892 et Archiv. de Physiologie, n° 1, 1893, p. 30. Planches.

PORGE. — *De l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine dans les tissus vivants*, Steinheil, 1893, Thèse de doctorat de la Faculté de Médecine de Paris.

HÉNOQUE. — *Spectroscopie biologique. I. Spectroscopie du sang*. Encyclopédie des Aide-Mémoire. Masson et Gauthier-Villars, éditeurs.

— *Spectroscopie du sang, Sémiologie* (Traité de Pathologie générale de Bouchard, t. IV, p. 83 à 106, Masson, Paris, 1897).

— *Spectroscopie Biologique. II. Spectroscopie des organes, des tissus et des humeurs*. Encyclopédie des Aide-Mémoire. Masson et Gauthier-Villars, éditeurs.

— *Spectroscopie biologique. III. Spectroscopie de l'urine et des pigments*. Encyclopédie des Aide-Mémoire. Masson et Gauthier-Villars, éditeurs.

## II. SPECTROSCOPIE DU SANG

D'ARSONVAL. — *Société de Biologie*, 4 mai 1889 (Photographie de la 3<sup>e</sup> bande de l'oxyhémoglobine dans le violet).

AUGÉ. — *De l'hématospectroscopie des tissus vivants comme méthode de recherche des oxydations nutritives*. Thèse de la faculté de Médecine de Montpellier, 26 novembre 1892, n° 4.

BAUDOUIN. — *Des Syphilides malignes précoces*. Steinheil, Paris, 1889.

CL. BERNARD. — *Leçons sur les anesthésiques et sur l'asphyxie*. J. B. Baillière et fils. Paris, 1875.

- BERTIN-SANS et MOITESSIER. — *Sur la méthémoglobine et sur l'hémoglobine oxygénée*. C. R. Acad. des Sciences, 1891 et 20 février 1893.
- BERTIN-SANS. — *Sur la méthémoglobine*. J. B. Baillière, 1888.
- BOHR. — *Sur les combinaisons de l'oxyhémoglobine avec l'oxygène*. Extrait du Bull. de l'Acad. roy. Danoise, 9 mai 1890, Copenhague et C. R. Acad. des Sciences, 4 août 1890.
- BROUARDEL et LOYE. — *Notes sur l'action physiolog. de la kairine et sur l'asphyxie*. C. R. Soc. Biol., 1884 et 1885.
- CAZENEUVE. — *Recherches de chimie médicale sur l'hématine*, Masson. Paris, 1876.
- CORRADO. — *Spettroscopia dei Tissuti vivi e morti*. Estratto del giornale Intern. delle Scienze Mediche Anno. XIX. Enrico Detken, Napoli, 1892.
- DELAFONTAINE. — *Analyse spectrale*. Article du Dictionnaire de chimie de Wurtz.
- DIAKONOW. — *Ueber die Einwirkung des Schwefelwasserstoff auf das Blut*. Hoppeseyler's Med. Chem. Untersuchung, 1867, Heft. 2, p. 251.
- FALK. — *Zur Spectroscopie im der forensichen Praxis*. Horns Vierteljahrsch. für gericht. medic. Bd. VI, p. 354-358.
- FÉRÉ. — *Notes hématospectroscopiques chez les hystériques et les épileptiques*. C. R. Soc. de Biologie, 16 février 1889.
- FUMOZE. — *Loc. cit.* p. 171. *Les spectres d'absorption du sang, avec trois planches*. Germer-Baillière, Paris, 1871.
- GAMGEE. — *Loc. cit.* p. 171 et C. R. de l'Acad. des Sciences 1869, n° 12, p. 730, 732.



GORUP-BESANEZ. — *Traité de chimie physiologique*. Traduction de F. Schlagdenhaufen. Dunod, Paris, 1880.

GARNIER et SCHLAGDENHAUFFEN. — *Analyse chimique des liquides et des tissus de l'organisme, spectroscopie*. Encyclopédie chimique de Fremy, t. IX, Dunod. Paris, 1888.

HAYEM. — *Loc. cit.* p. 189 et 172. *Du sang et de ses altérations anatomiques*. Grand in-8, 1035 pages, G. Masson, Paris, 1889.

HÉNOQUE (A.). — *Loc. cit.* passim. *Étude spectroscopique de l'action du nitrite de sodium sur le sang*. Dédutions physiologiques, toxicologiques et thérapeutiques. C. B. Soc. Biol., 1883, p. 669.

— *De l'examen spectroscopique du sang et de diverses substances colorantes au moyen de la lumière blanche diffuse, réfléchi par la porcelaine*. Applications physiologiques, toxicologiques et médico-légales. C. R. Soc. de Biol., 8<sup>e</sup> série, t. I, n<sup>o</sup> 6, p. 59, 9 février 1884.

— *De l'examen spectroscopique comparatif de la surface sous-unguéale des deux pouces*. Ibid., t. II, p. 960-962, n<sup>o</sup> 44, 27 décembre 1884.

— *L'Hématoscopie*, articles 1 et 2, in Gazette Hebdomadaire de Méd. et de Chir., n<sup>o</sup> 43, 23 octobre 1886, n<sup>o</sup> 13, 1<sup>er</sup> avril 1887.

— *Méthode d'hématoscopie et appareils pour l'analyse spectroscopique du sang*. Bulletin de la Société française de physique, janvier, juillet 1887.

— *Note sur l'étude hématoscopique du sang dans l'intoxication par l'oxyde de carbone*. Applications médico-légales. C. R. Soc. de Biol., 7 mai 1887.

— *Mode d'action de l'acétanilide (Antifébrine) sur le*

- sang et sur l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine, *ibid.*, 23 juillet 1887.
- *Réaction spectroscopique des sels de thalline dans les tissus et les humeurs. Action de la thalline sur le sang.* C. R. Soc. Biol., février 1883 et article « Thalline » par Eloy. Dict. Encyclopéd. t. XVII, 3<sup>e</sup> série, p. 82.
- *De l'influence de la paraldéhyde sur la calorification sur l'oxygénation de l'hémoglobine et sur les phénomènes d'échanges.* C. R. Soc. de Biol., 8<sup>e</sup> série, t. I, n<sup>o</sup> 11, 21 mars 1884.
- *De l'antipyrine, son origine, ses propriétés thérapeutiques et physiologiques.* Gazette Hebdomadaire de Méd. et de Chir., n<sup>o</sup> 50, p. 818, 13 décembre 1884, et *Des propriétés hémostatiques de l'antipyrine.* C. R. Soc. de Biol., 7 janvier 1888.
- *De l'exalgine. Action sur le malade, action toxique sur les cobayes.* Société de thérapeutique, Congrès de thérapeutique. Bulletin général de thérapeutique, p. 117, 1889 et 15 février 1891.
- *De l'activité de réduction de l'oxyhémoglobine chez les chlorotiques et les anémiques.* C. R. Soc. Biol., 26 novembre 1887.
- *De l'influence des médications thermales sur l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine et sur la richesse du sang en oxyhémoglobine,* *ibid.*, 17 novembre 1887.
- *Exposé des conditions d'exactitude des procédés hématoscopiques.* Réponse aux remarques de M. Malassez sur la méthode d'hématoscopie de M. Hénocque, *ibid.*, 24 mars 1888, p. 299.
- *Du sulfonal, son action toxique chez les cobayes.*



- Bullet. et mém. de la Soc. de thérapeutique, 9 janv. 1889, p. 23.
- *Influence de l'ascension à 300 mètres sur l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine.* Arch. de physiol. norm. et path., t. I, 1890, p. 710.
- *De la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de réduction de cette substance chez les diabétiques.* Archiv. de physiol. norm. et path., t. I, p. 211.
- *Des variations de la quantité d'oxyhémoglobine à la suite des injections du liquide de Koch.* Revue génér. de cliniq. et de therap., 1890, p. 819.
- *Des applications de l'analyse spectrale du sang à l'étude des médications dans la tuberculose.* Congrès pour l'étude de la tuberculose, 1891, p. 632 (Observations sur le liquide de Koch).
- *Des modifications de la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de la réduction chez des phthisiques traités par les injections de liquide testiculaire.* Archiv. de Physiologie, p. 45, t. IV, 1892.
- *Étude de l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine dans les tissus vivants.* Leçon faite au Cours de pathologie et de thérapeutique générales, à l'École de Médecine, le 4 juin 1895, sous la présidence du professeur Bouchard. Presse médicale, n° 43, 1895, p. 337.
- *Spectroscopie du sang, sémiologie.* Traité de Pathologie générale de Bouchard, t. IV, p. 83, 1897, G. Masson.
- HÉNOUCQUE et BAZY. — *Applications de l'analyse spectroscopique du sang à la chirurgie, des variations de la quantité d'oxyhémoglobine du sang et de l'activité de réduction dans l'anesthésie chloroform-*

- mique chez l'homme. Compte-rendu du Congrès de chirurgie, 4 avril 1891, p. 526.
- HERMANN. — *Grundriss der Physiologie der Menschen*. Berlin, 1870, 3<sup>e</sup> édition. Archiv. f. d. gesamt. Physiol. IV, p. 209, 1871, description d'un hématoscope.
- HOPPE-SEYLER. — *Handbuch der physiologische und pathologische, chemischen analyse*. 3<sup>e</sup> édition, Berlin, 1870.
- *Physiologische Chemie*, III, Berlin, 1879. Une dernière édition a paru en 1895, l'on y trouvera le résumé de tous les travaux publiés par Hoppe-Seyler et ses élèves dans le *Zeitschrift, f. Physiologische Chemie* de 1879 à 1895 qui constituent une œuvre considérable en spectroscopie biologique.
- LABBÉ (DONATIEN). — *De l'ozone, aperçu physiologique et thérapeutique*. Asselin et Houzeau, Paris, 1889. Étude de l'action des respirations d'ozone sur la quantité d'oxyhémoglobine du sang.
- LABBÉ et P. OUDIN. — *Du traitement de la tuberculose pulmonaire par les inhalations d'air ozoné*. Rapport de M. Hérard. Bullet. Acad. de Méd., 10 octobre 1893.
- LABBÉ (MARCEL). — *Des variations de la quantité d'oxyhémoglobine du sang chez les nourrissons traités par les injections du sérum artificiel*. C. R. Soc. Biol., 22 janvier 1898.
- LAFON. — *Des modifications du sang par le traitement thermal de l'eau de la Bourboule*. C. R. Acad. des Sciences, 18 février 1895 et 4 mai 1896.
- LEJARD (CH.). — *Des anémies*. Paris, 1888. Physiologie pathologique. Études hématoscopiques. Traitement.



- LEICHTENSTERN. — *Untersuchung ueber der Hämoglobins. Gehalt. der menschlich. Blutes.* Leipzig, 1878.
- MASOIN (PAUL). — *Dosage de l'hémoglobine dans le sang des myxœdémateux.* Acad. Roy. de Méd. de Belgique, janvier 1895. C. R. de la Soc. de Biol. 2 février, 23 mars 1895.
- MARCHAND. — *Ueber die Intoxication durch Chlorsaure, Salze,* Virchows, Arch. 1877, vol. 77. p. 55, et 1879, p. 488.
- OTTO. — *Ueber das Oxyhæmoglobin der Schweines.* Zeitschr. f. physiolog. Chem. 1883, Bd. VII, p. 55, ueber krystallinisch. méthœmoglobine, ibid. p. 65.
- *Untersuchungen uber die Blutkörperchenzahl und der Hemoglobin gehalt des Bluts.* Pflugers Archiv. t. XXXVI, p. 12, 1885.
- PORGE. — *De l'activité de réduction de l'oxyhémoglobine dans les tissus vivants.* G. Steinheil, Paris, 1893.
- PREYER. — *Die Blut Krystalle.* Iéna, 1871.
- QUINCKE. — *Ueber den Hæmoglobine gehalt der Blutes im Krankheiten.* Arch. f. pathol. Anat. t. IV, p. 541, 1872. Zur Pathologie des Blutes. Deutsches archiv. für klinische medicin. t. XXV, p. 567 et t. XXVII, 193.
- QUINQUAUD. — *Note sur l'action du chlorhydrate de kairine. Sur le spectre d'absorption produit par le chlorhydrate de kairine sur le sang.* C. R. Soc. de Biol., 6 et 10 mai 1884.
- RABUTEAU. — *Sur les altérations du sang produites par les nitrites.* C. R. Soc. Biol. 1883, p. 685. Éléments de toxicologie et de médecine légale. Lauvereyns, Paris, 1875.
- REGNARD. — *Recherches expérimentales sur les va-*

- riations pathologiques des combustions respiratoires.* A. Delahaye, Paris, 1879.
- RENAUT. — *Traité d'histologie pratique.* t. I. Ch. I et II, 1890.
- ROLLETT. — *Physiologie der Blutes und Blut bewegung in Handbuch der Physiologie von Hermann.* IV, Bd. I, 340, p. Vogel, Leipzig, 1880.
- STROGANOFF. — *Processus de l'oxydation dans le sang normal et dans l'asphyxie.* Centralblatt f. d. Mediz. Vissensch. 1876, n° 28.
- TOURDES. — Article « Sang ». *Médecine Légale.* Dictionnaire Encyclopédique des Sciences Médic.
- TRIPET. — *Hématoscopie pratique chez les paludéens, les ictériques et les cachectiques.* Bullet. Soc. Méd. Chir., 13 novembre 1893, p. 103 à 112.
- VIERORDT. — *Physiologische spectral Analyse.* Zeitschrift f. Biologie, von Pettenkofer u. Voit, XI Bd. II Heft., Munschen, 1875.
- *Die Quantitative spectral Analyse in ihre Anwendung auf Physiol.* Tubingen, 1876.
- WURTZ. — *Traité de chimie biologique,* t. I, 1888.
- ZINOFFSKI. — *Ueber die Grösse der Hæmoglobin Molecules.* Inaug. dissert. Dorpat, 1885, et Zeitschrift f. physiologische Chemie, X, 1886, p. 33.

### III. SPECTROSCOPIE DES ORGANES ET DES TISSUS

- BOLL. — *Le pourpre rétinien.* Monatschr. der Berlin. Acad. 12 novembre 1876.
- CHARPENTIER. — *Nouvelles recherches sur les oscillations rétiniennes.* Arch. de Phys., t. VIII, p. 677.



- COPEMAN. — *Myohématine*. Société Physique de Londres, 1870.
- DOR. — *Réaction chimique des noyaux des cônes et des noyaux des bâtonnets dans les rétines exposées à des radiations colorées*. Annales d'Oculistique, juin 1896, p. 443.
- GÖEBEL. — *Dépôt de pigment dans la musculature intestinale*. Archiv. f. path. anat. CXXV, 3<sup>e</sup> Heft.
- GILLET DE GRANDMONT. — *Observation de cataracte noire. Extraction. Analyse spectroscopique*, par le Dr Hénocque. Archives d'Ophtalmologie, 2, 13, n<sup>o</sup> 4, p. 272, mai 1893, 2 planches.
- GÉRALD-YEO. — *An attempt to estimate the gaseous interchange of the frog heart by means of the spectroscope*. The Journal of Physiology, v. VI, n<sup>o</sup> 3, mai 1885.
- HEGER-PERGENS. — *Action de la lumière sur les éléments de la rétine*. C. R. Acad. de Méd. de Belgique, 29 février, 28 novembre 1896.
- HÉNOCQUE. — *Spectroscopie Biologique*. I. *Spectroscopie du sang*, 1895; II. *Spectroscopie des organes des tissus et des humeurs*, 1897.
- HOPPE-SEYLER. — *La myohématine est de l'hémochromogène*. Zeitsch. f. physiol. Chemie, V. XIII.
- W. KUHNÉ. — *Ueber der Seh Purpur (sur le pourpre rétinien). Untersuchungen aus dem physiologisch. der Universität Heidelberg*. Bd. I, heft. I. Heidelberg, 1877. (Les volumes I et II de cette publication 1877 à 1878 contiennent de nombreux mémoires de Kuhne, Ewald, Ayres, Mays sur le pigment rétinien. Dans le 4<sup>e</sup> fascicule du 1<sup>er</sup> volume, le mémoire *Ueber Licht beständige Farben der Netzhaut*, est

une étude spectroscopique du pourpre rétinien accompagnée de trois planches, et faite en collaboration avec le Dr Ayres.

MAC-MUNN. — *Myohématine and the Histohématine*.

Philosoph. Transact of the Royal society. Part. I.

1886, et Journal of Physiology. V. VIII, n° 2, 1887.

PFLÜGER (E.). — *Centralbl. f. die Mediz. Wissensch.*,

1867, p. 321.

— *Ueber die Geschwindigkeit der Oxydations Prozesse in arteriell. in Blutstrom*. Pflügers Archiv., 1868, Bd. I, p. 274.

POUCHET. — *Changement de coloration sous l'influence des nerfs*. Journal de l'Anatomie et de Physiologie, 1876-77.

RANVIER. — *Note sur les vaisseaux sanguins et la circulation dans les muscles rouges*. Arch. de Phys. norm. et path., 1874, nos 4 et 5, p. 449.

— *Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire*, recueillies par M. J. Benaut, Delahaye, Paris, 1880, p. 142 et 144 (description et figure du myspectroscope, du spectre produit par les muscles striés). Archives de physiologie, n° 6, 9 décembre, 1874, p. 775.

#### IV. SPECTROSCOPIE DES HUMEURS

*Bibliographie générale.* — Consulter *passim*, les ouvrages suivants pour l'étude des humeurs au point de vue chimique, spectroscopique et biologique.

WURTZ. — *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*.

FRÉMY. — *Encyclopédie chimique*, t. IX, Chimie Physiologique.



## 184 SPECTROSCOPIE DU SÉRUM ET DES HÉMOLYMPHES

— *Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales*. Divers articles.

GAUTIER. — *Leçons de chimie biologique normale et pathologique*. 2<sup>e</sup> édition (en collaboration avec M. Arthus) Masson et C<sup>ie</sup>, Paris, 1897.

GORUP BESANEZ. — *Traité de chimie physiologique*. Traduction de Schlagdenhaufen. Dunod. Paris, 1880.

HALLIBURTON. — *Lehrbuch der chemisch. Physiolog. u. Pathol.* Traduction allemande de Kayser avec additions et annotations. Heidelberg, 1893.

HAMMARSTEN. — *Lehrbuch der Physiologischen Chemie*. Bergmann Wiesbaden, 1891 (une planche spectrale).

HOPPE-SEYLER. — *Handbuch der physiologischen u. patholog. Chemisch. Analyse*, 4<sup>e</sup> édition, Berlin, 1895.

ROBIN (CHARLES). — *Leçons sur les humeurs normales et morbides*. 2<sup>e</sup> édition, Paris, 1874.

THUDICHUM. — *A manual of chemical Physiology*. Longmann, London, 1872. — *The progress of Medical chemistry*. Baillière, London, 1896.

WURTZ. — *Chimie Biologique*. G. Masson, Paris, 1889.

## V. SPECTROSCOPIE DU SÉRUM ET DES HÉMOLYMPHES

FRÉDÉRICK. — *Note sur le sang de Homard*. Bull. Acad. Roy. de Belgique, 2<sup>e</sup> série, t. XLVII, n<sup>o</sup> 4, avril 1879.

— *Sur le sang des insectes*. Ibid., III<sup>e</sup> série, t. I, n<sup>o</sup> d'avril 1881.

GERSON. — *Examen du lait des nourrices, procédés cliniques*. Thèse de Médecine de Paris. G. B. Baillière et fils, 1892.

- HAYEM. — *Du sang et de ses altérations anatomiques* (Altérations du Plasma, p. 395, Ictère et Urobilinurie, p. 485).
- HALLIBURTON. — *Blood of crustacea*. The Journal of physiology. Vol. VI, n° 6, novembre 1885, p. 301, 335, planches.
- JOLYET et REGNARD. — *Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques*. Archiv. de Physiologie. Vol. IV, p. 600, 1877.
- KRUKENBERG. — *Vergleichend physiologischen studien. Experimentelle untersuchung*. Zweite Reihe, I, II, III abtheilung. Carl Winter. Heidelberg.
- *Grundzuge einer vergleichend Physiologie der Farbstoffe u. der Farben*. Heidelberg. C. Winter, 1884 (Bibliographie très étendue).
- LANKESTER. — *Journal of Anat. a. Physiology*, 1868, II, 114. Proceedings Roy. Soc. XXI, 1871 (Hémoglobine chez les Chétopodes et les larves de Chironomus).
- MAC-MUNN. — *Animal chromatology*. Proceedings Birmingham. Philosophical Society. Quaterly journal of microscopic. Anat., 2 septembre 1895.
- MEREJKOWSKI. — *Sur la tétronérythrine dans le règne animal et sur son rôle physiologique*. C. R. Acad. des Sciences. t. XCIII, p. 1029, 1881.
- POULTON. — Proceedings Roy. Soc. London, 1885, p. 270. *Recherches sur le sang des insectes*.

## VI. SPECTROSCOPIE DE LA BILE

- BOGOMOLOFF (et KOSCHLAKOFF). — *Unterschied. Zwischen der Pettenkoffer Gallensauren und Eiweiss*



- reaction*. Centralbl. die f. mediz Wissenschaft. 1868, p. 520.
- *Ueber die spectral eigenschaften der Gmelinschen Reaction*. Centralbl. f. die med. Wissensch. 1869, p. 529.
- BOUCHARD. — *Leçons sur les auto-intoxications*, 1887, p. 241.
- DASTRE. — Article « Bile ». *Dictionnaire de physiologie de Richet*. Félix Alcan, Paris, 1896.
- GORODECKI. — *Ueber der influess. der experimentall in der Körper eingeführtren Hemoglobine auf secretion unt Zudammensetzung der Galle*. Inungural dissert. Dorpat, 1889.
- HANOT. — *Cirrhose pigmentaire*. Soc. de Biologie, 13 mars, 17 juin 1893.
- HANOT et SCHACHMAN. — *Archiv. de Physiologie*, 1886 et 1887.
- HUGOUNENQ et DOYON. — *Recherches sur les pigments biliaires, préparation de la biliverdine*. Archiv. de Physiologie norm. et path., VIII, p. 525.
- LAPICQUE. — *Le foie détruit l'Hémoglobine*. S. Biol. p. 464, 1897.
- KIENER et ENGEL. — *Sur les rapports de l'Urobilinurie et de l'ictère*. Soc. de Biol., 9 avril 1887 et 6 octobre 1888.
- KRATKOW. — *Ueber der Einfluss der Unterbindung der Gallenganges auf den Stoffuechsel im thierischem Organismus*. Wratsch, 1891, n° 29 et Centralbl. Wissenschaft, 1891, n° 51, p. 92.
- KÜFFRATH. — *Ueber die abwesenheit der Gallensauren im Blutts nach dens Verschluss der Gallen und der Milchbrustganges*. Arch. de Physiologie de Brown-Séguard, 1880, p. 92.

- LÉTIENNE. — *De la bile à l'état pathologique. Étude physique, micrographique et bactériologique.* Thèse de Paris, Steinheil, 1891.
- LETULLE. — *Cirrhose hypertrophique pigmentaire, non diabétique. Trois observations,* Soc. Médic. des hôpit. Paris, 5 février 1897.
- MAC-MUNN. — *Bile pigments and others.* The Journal of physiology. Vol. VI, nos 1 et 2.
- MALY. — *Untersuchungen ueber die Gallenfarbestoffe.* Annales de Chem. et Pharm. t. CLXXV, 1874.
- NENCKI et SIEBER. — *Bull. Soc. chimique.* 3<sup>e</sup> série, IV, 95.
- RANSOM. — *Recherches sur la sécrétion de la bile dans un cas de fistule biliaire.* Associat. médic. Britanique. Congrès de Carlisle, juillet 1896.
- SALKOWSKI. — *Practicum der. Phys. u. Pathol. Chemie,* 1886.
- RYSWOCK. — *La bile du cobaye peut contenir des acides biliaires.* Rev. des Sciences Médic. n° 95, p. 20, 1886, Centralblatt. f. physiolog., VII, n° 16.
- SCHIFF. — *Sur la réaction des acides biliaires et leur différence chez le bœuf et chez le cobaye.* Arch. de Physiologie, IX, 1892, p. 594.
- STOKVIS. — *Das Gmelin'sche Oxydations der Gallenfarbstoffe.* Centralbl. f. die med. Wissensch. Ueber einstimmung der Urobilin met. einem Gallenfarbstoffe production, 1872 et 1873.
- THUDICHUM. — *Further researches on bilirubin and its compounds.* Journ. of the Chem. Society, 1875.
- TISSIER. — *Pathologie de la sécrétion biliaire.* Thèse de Paris, 1889.



- VOSSIUS. — *Archiv. f. Experiment. Pathologie und Pharmakologie*, 1879, XI, 427.
- WERTHEIMER et E. MEYER. — *De l'apparition de l'oxy-hémoglobine dans la bile*. *Arch. de Physiol. de Brown-Séguard*, 1886, p. 438.
- WERTHEIMER. — *Expérience montrant que le foie rejette la bile introduite dans le sang*. *Archiv. de Phys. de Brown-Séguard*, 1891, n° 4, p. 724.
- *Élimination par le foie de la matière colorante verte des végétaux*. *Ibid.*, 1893, n° 122.
- WINTER. — *Recherches de l'urobiline dans la bile*. *Société de Biol.*, 1889.

## VII. SPECTROSCOPIE DE L'URINE

Traités généraux à consulter.

- FRÉMY. — *Encyclopédie chimique*. t. IX. *Chimie des liquides et des tissus de l'organisme*, 2<sup>e</sup> partie, VI, par le Dr Garnier, 1896, Dunod et Vicq. Paris.
- GAUTHIER. — *Leçons de chimie biologique*, 2<sup>e</sup> édition, 1897.
- LABADIE-LAGRAVE. — *Urologie clinique et Maladies des reins*, Paris, 1888, 1178 p.
- MAC-MUNN. — *Clinical chemistry of urine*. Churchill, London, 1889.
- MÉHU. — *L'urine*. Asselin. Paris, 1880.
- SALKOWSKI et LEUBE. — *Die Lehre von Harn*. Hirschwald, Berlin, 1882, 554 p.
- NEUBAUER et VOGEL. — *Anleitung qualitativen und quantitativen Analyse des Harns*. 8<sup>e</sup> édition, Kreidels-verlag, Wiesbaden, 1881.
- YVON. — *Manuel clinique de l'analyse des urines*. 5<sup>e</sup> édition, Doin, Paris, 1896.

*Bibliographie spéciale.*

- AMANN. — *Recherche de l'indican dans l'urine*. Revue médicale de la Suisse romande, 1897, p. 6.
- BOGOMOLOFF. — *Die methoden der quantitativen Bestimmung des Urobilines im Harn*. Deutsche medic. Wochenschrift, 1892, n° 43 et Jahrsbericht. f. Thier. Chemie, vol. XXII, 1893.
- DISQUÉ. — *Ueber Urobilin*. Zeitschr. fur Phys. Chemie. Bd. II, 1878, p. 259.
- A. GARROD. — *A contribution to the study of uroerythrin*. Journal of Physiology, 17, p. 439, 450.
- GAUTRELET. — *Technologie de l'urobiline, Urobilini-mètre*. Revue des maladies de la nutrition, n° 2, 1896.
- *Essai de spectroscopie urologique*, n° 1, etc., 1897.
- HAMMARSTEN (OLOF). — *Lehrbuch der Physiologische Chemie*. Bergmann, Wiesbaden, 1890, 14<sup>e</sup> chapitre. Der Harn. p. 270 à 364.
- HAYEM. — *Ictère et Urobilinurie. Du sang et de ses altérations anatomiques*. IV<sup>e</sup> partie, p. 485, 517.
- *Recherches cliniques de l'urobilinurie*. Gaz. Hebd. de Méd. et de Chir., nos 32, 33, 1887.
- JAFFÉ. — (*Urobiline*). Jahresber. f. Thier. Chemie, t. 1, p. 33. Centralblatt f. die Mediz. Wissensch., 1868, p. 243, ibid. 1871, p. 465. Virchows Archiv. 1869, t. XLVII, p. 405.
- (*Indican*) Centralbl. f. die Mediz. Wissensch., 1872, n° 1.
- Pflugers Archiv. t. III, p. 448, Virch. Archiv. t. LXX, p. 72, 1877.
- KIENER et ENGEL. — *Sur les conditions pathogéniques de l'ictère et ses rapports avec l'urobilinurie*. Archiv. de phys. norm. et path. 1887, 15 août, n° 6.



- LENOBEL. — *Urohématoporphyrine*. Pflugers Archiv. V. XL, 1887.
- MAC-MUNN. — *Urohématine*. Jahrb. f. Thier. Chemie, 1881, p. 214, 1885, p. 324.
- *Hématoporphyrine*. Journ. of physiolog. t. XI, p. 13, 1890.
- NENCKIU SIEBER. — *Ueber das Haematoporphyrine*. Archiv. f. experiment. Pathol. u. Pharmak. Vol. XVIII, p. 405, XX, p. 325, XXII, p. 430.
- (*Uroroséine*). Journ. f. pract. Chemie, t. XXXV, p. 333, 1882.
- MEHU. — (*Urobiline*). Bull. de l'Acad. de Méd., p. 26, 1878.
- OTTO. — (*Indican*). Archiv. f. Gesammt. Physiologie, t. XXIII, 614 et t. XXXVI, 1885, p. 12.
- PETITPAS. — *De l'Indicanurie*. Étude pathogénique et séméiologique. Thèse de Paris, 1896, n° 466.
- QUINCKE. — *Eigenthümlicher Farbestoff in Harn*. Sulfonal vergiftung, Berliner Klin. Wochenschr. 1892, n° 36.
- RIVA. — *Contribuzione allo studio della uroeritrina*. Gazzetta medica de Torino, t. XLII, n° 1, p. 7 et 8, n° 47, p. 223, 1892.
- *Encora della uroeritrina*. Gaz. Méd. di Torino, 1892, n° 47.
- ROSEN. — *Uroroseine und sein Chromogen*. Deutsch. Mediz. Wochenschr., 1893, n° 3, Jahrb. f. Thier. Chemie, 1893, p. 00.
- SAILLET. — *De l'urospectrine*. Rev. de Médec., p. 542, 1896, avec figures.
- SALKOWSKI. — (*Indican*) Bericht der Deuts. Chemisch Gesellschaft. 1878, Virchow's Archiv. Bd. 68.

- STOKVIS. — *Spectre de l'indican*. Chem. Centralbl. 1871, 36.
- STUDENSKI. — *Zur frage der quantitativ. Bestimmung des Urobilin in Harn*. Saint-Petersburger. Wochenschrift, n° 30, 1893.
- THUDICHUM. — *The progress of Medical chemistry comprising its application to Physiology, Pathology, and Practice of medicine*. Baillière Tyndall, London, 1896.
- THUDICHUM. — *Uroérythrinc*. Journ. of the chemic. Society, t. XIII, p. 399, 1875.
- VIGLEZIO. — *Sulla patogenesi dell' Urobilinurie*. Lo Sperimentale, anno XLV, 15 septembre 1891, memori originali. Fascicol. III et IV.
- VIERORDT. — *Analyse spectrophotométrique de l'urine. Die Anwendung der spectral Apparates, etc.* Tubingen, 1873, et *Die quantitative spectral Analyse und ihre Anwendung auf Physiologie, etc.* Tubingen, 1876.
- L. ZOJA. — *Ueber Uroerythrin u. Hematoporphyrin im Harn*. Centralbl. f. die Med. Wissensch., 1892, n° 39, p. 705-706.
- *Su qualche pigmenti de alcun urine e specialmente sulla presenza in esse di ematoporfirina ed uroeritrina*. Archivio Italiano Clinica Med., 1893.

## VIII. PRODUITS MÉDIATS

- DISQUÉ. — *Stercobiline*. Zeitschr. f. phys. Chemie, II, 259.
- HOPPE-SKYLER. — *Stercobiline provenant de l'Hématine*. Physiolog. Chemie, p. 344 et p. 339. Edit. 1878.



- MAC-MUNN. — *Stercobiline* provenant de la nourriture par Hématiné. *Journal of Physiology*, X, p. 115.  
— *Clinical chemistry of urine*. London, 1889.
- MOTT. — *Le méconium est de la bile concentrée*. *Practitioner*. August, 1890.
- ROBIN. — *Leçons sur les humeurs. Des produits médiats en général, du méconium, du chyme et des fèces en particulier*. XXIX<sup>e</sup> Leçon, p. 943, 2<sup>e</sup> édition, 1874.
- VAN LAIR et MASIUS. — *Stercobiline*. *Centralblatt f. Mediz. Wissensch.*, 1871, n<sup>o</sup> 24.
- VIERORDT. — *Stercorine*, *Jahrb. f. Thier. Chemie*, 1875, p. 132.

## IX. PIGMENTS

- ABEL. — *Bemerkung über die tierisch. Melanin und das Hæmosiderin*. *Virchows Arch.* 1890.
- LAPICQUE. — *Hémosidérine. Historique*. C. R. Soc. Biol. p. 486 et 873. 1897.
- P. CARNOT. — *Recherches sur le mécanisme de la pigmentation*. Thèse de Doctorat ès Sciences nat., 1896.
- HENRI BECQUEREL et CH. BRONGNIART. — *La matière verte chez les Phyllies, orthoptères de la famille des Plasmides*. C. R. Acad. des Sciences, 118, 1299, 1303. 1894.
- Cl. BERNARD. — *Leçons sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux végétaux*, 2 vol. Paris, 1878, 1879.
- BOUVIER. — *La chlorophylle animale et les phénomènes de symbiose entre les algues vertes unicellu-*

- laïres et les animaux*. Bullet. Soc. Philomatique, Paris (8) 5, n° 2, 72, 1893.
- ENGELMANN. — *Ueber Thierische Chlorophyll*. Pflügers Archiv. f. ges. Phys. t. XXXII, 1883.
- HÉNOCQUE. — *Sur l'inoculation du cancer*. Gaz. Hebdomadaire, 867, p. 705, 717, 781 et C. R. Soc. anatomique, t. XLIII, p. 233, 1868.
- KRUKENBERG. — *Grundzüge einer Vergleichende physiologie der Farbstoffe u. der Farben*. Heidelberg, 1884.
- Pigments des plumes des oiseaux, tableau schématique*.
- LINOSSIER. — *Sur une hématine végétale, l'aspergilline, pigment des spores de l'aspergillus niger*. C. R. Acad. des Sciences, 2 mars 1894.
- MAC-MUNN. — *Matière colorante des aplysies*. Proceedings of the Birmingham Philos. Society, vol. III, 1883, p. 392.
- MALASSEZ. — *Note sur le picrocarminate d'ammoniaque*. Archiv. de phys. norm. et path. 1877, p. 41-45. (Planche spectroscopique).
- REITTERER. — Article « Pigment », du Dictionnaire Encyclop. des Sciences médic.
- ZEIGLER. — *Matière colorante des aplysies*. Journ. f. pract. Chem. Bd. 103, 1868, p. 63.

## X. TECHNIQUE

- D'ARSONVAL. — *Spectrophotomètre différentiel sans polarisation*. Soc. de Biol., 18 mai 1889.
- BRANLY. — *Dosage de l'oxyhémoglobine par les procédés optiques*. Thèse de Paris, n° 207, 1882.
- CHERBULIEZ. — *Étude spectrophotométrique du sang oxycarboné*. Thèse de Paris, 1890.



- FUMOUZE. — *Les spectres d'absorption du sang*. Thèse de Paris, 1870.
- GAUTRELET. — *Technologie de l'urobiline, urobilinimètre spectroscopique*. Revue des maladies de la nutrition, n° 2, 1896, p. 88.
- *Essai de spectroscopie urologique*, 1897, 1 et 2, p. 48 et p. 106.
- GERSON. — *L'examen du lait des nourrices. Procédés cliniques*. J. B. Baillière et fils, 1892.
- GLAN. — *Nouveau photomètre à faisceaux superposés*. Wied. ann. 1, p. 331, Journal de physique, VI, 318, 1877.
- HENNINGER. — Article « Hémoglobine. Recherche et dosage, méthode spectrophotométrique ». Dictionnaire de Chimie de Wurtz. Supplément, p. 908.
- HÉNOQUE. — *Hématospectroscopes*. C. R. Acad. des Sciences, t. CIII, n° 18, p. 817, 2 nov. 1886.
- *Influence de la lumière blanche diffuse*. Soc. Biol. 9 février 1884, C. R. Soc. Biol., 8<sup>e</sup> série, t. I, p. 59.
- *Étude microspectroscopique du sang*. Archiv. de Physiol. n° 3, juillet 1891, planches chromolit. et C. R. Soc. Biol. 1891.
- HUFNER. — *Ueber quantitative spectral Analyse und ein neues Spectrophotometer*. Journ. f. prakt. chemie, t. XVI, 1877, et XXII, 1880.
- JANSSEN. — *Spectroscope à vision directe*. C. R. Acad. des Sciences, t. LV. 1862.
- *Sur le spectre de l'atmosphère*. C. R. Acad. des Sciences, 1888, p. 672, 1889, p. 1035, 1890, p. 431.
- LAMBLING. — *Des applications de la spectrophotométrie à la chimie physiologique*. Arch. de physiol.

- norm. et path. n° 5, 1<sup>er</sup> juillet 1888, n° 8, 15 novembre 1888.
- LEFÈVRE. — I. *Spectroscopie*. II. *Spectrométrie, appareils et mesures*. Encyclopédie des Aide-Mémoire.
- MASCART. — *Traité d'optique*, Paris, 1889, 1893.
- MOITESSIER. — *Physique appliquée, optique. Spectroscope pour l'observation d'un liquide sous des épaisseurs variables*, p. 257. Masson, 1879.
- MAURICE DE THIERRY. — *Hémaspectroscope*. C. R. Acad. des Sciences, t. C, n° 19, CI, n° 17, 1885.
- MAURICE DE THIERRY. — *Hémaspectroscope comparateur*. C. R. Acad. des Sciences, 18 avril 1895,
- VIERORDT. — *Die Anwend. des spectral Apparates zur Photometrie der Absorption Spectren*. Tubingen, 1873. Spectrophotomètre à fentes variables.
- *Die quantitative spectral Analyse in ihr Anwendung auf Physiolog. Physiq. et Technolog.* Tubingen, 1876. Lauth Behandlung. (Tables et graphiques nombreux des coefficients d'extinction et des rapports d'absorption des matières colorantes du sang, de la bile, de l'urine, du carmin, etc.)
- VOGEL. — *Practische spectral Analyse irdischer Stoffe, qualitative spectral Analyse*. Description des spectroscopes, spectroscope universel, microspectroscopes, 2<sup>e</sup> édit. Oppenheim, Berlin, 1889.
- YVON. — *Manuel clinique de l'analyse des urines*, p. 260. Spectroscope à main, spectrophotomètre à épaisseur variable.
- ZENGER. — *Emploi des prismes à liquide dans le spectroscope à vision directe*. C. R. XCII, 1503, 1881,
- *Sur un spectroscope à vision directe très puissant*. C. R. Acad. des Sciences, XCVI, 1039, 1883.



## ERRATA

---

### SPECTROSCOPIE DU SANG, I

<i>Page</i>	<i>Ligne</i>	<i>Au lieu de</i>	<i>Lire</i>
19	3	Gaegem	Gamgee
19	21	Janssen... dès 1868	Janssen... dès 1862
87	37	VA	VB
96	15	montraient	montre
150	16	sous	. Sous

### SPECTROSCOPIE DES ORGANES, DES TISSUS DES HUMEURS, II

38	25	F à b	F à G
52	22	supprimer le mot : réduite.	

# TABŁE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION . . . . .	5
CHAPITRE PREMIER	
<i>Spectroscopie de l'urine (Urobilines)</i> . . . . .	11
Coloration de l'urine . . . . .	12
Tableau des matières colorantes de l'urine . . . . .	14
Urobiline . . . . .	15
Préparation de l'urobiline . . . . .	16
Caractères spectroscopiques de l'urobiline. . . . .	17
Dosage de l'urobiline . . . . .	21
Procédé de Viglezio . . . . .	23
Méthode de Bogomoloff . . . . .	28
Urobilines pathologiques . . . . .	30
Observation d'urobiline pathologique . . . . .	33
Chromogène de l'urobiline . . . . .	37
Rôle de l'urobiline . . . . .	38
CHAPITRE II	
<i>Spectroscopie de l'urine (Pigments urinaires)</i> . . . . .	42
Indican. Indogène . . . . .	42
Urospectrine . . . . .	47
Uroérythrine . . . . .	53
Urohématoporphyrine . . . . .	56
Uroroséine . . . . .	60
Dépôts sédimentaires de l'urine. . . . .	61



	Pages
Recherche du sang dans l'urine . . . . .	65
Hémoglobinurie. Méthémoglobinurie . . . . .	66
Recherche de la bile dans l'urine. . . . .	72
Colorations accidentelles de l'urine . . . . .	73

## CHAPITRE III

<i>Spectroscopie des produits médiateurs</i> . . . . .	74
Méconium . . . . .	74
Chyme . . . . .	76
Spectroscopie des excréments . . . . .	77
Stercobiline. . . . .	78
Rôle de la stercobiline. . . . .	82

## CHAPITRE IV

<i>Spectroscopie des pigments</i> . . . . .	85
Classification des pigments . . . . .	85
Pigments respiratoires. . . . .	87
Chlorocruorine . . . . .	88
Hémoérythrine . . . . .	89
Lipochromes ou lutéines . . . . .	89
Rôle des lipochromes . . . . .	92
Mélanides . . . . .	92
Eléidine . . . . .	95
Pigments tégumentaires ou dermiques . . . . .	96
Pigment des aplysies, Aplysine. . . . .	97
Punicine . . . . .	100
Carmin . . . . .	101
Chlorophylle animale . . . . .	105
Pigments microbiens . . . . .	109

## CHAPITRE V

	Pages
<i>Documents techniques</i> . . . . .	115
Éclairage . . . . .	115
Hématospectroscopes . . . . .	116
Éclairage par la lumière blanche diffuse . . . .	118
Procédé des godets . . . . .	121
Éclairage par la lumière diffuse d'origines diverses	123
Éclairage par la lumière électrique . . . . .	123

## CHAPITRE VI

<i>Spectroscopes à épaisseur variable</i> . . . . .	126
Examen des liquides à épaisseur variable. . . .	127
Urospectroscope d'Hénocque. . . . .	129
Pigmentomètre de Gautrelet. . . . .	131
Hémaspectroscope de Maurice de Thierry. . . .	131

## CHAPITRE VII

<i>Microspectroscopie</i> . . . . .	132
Microspectroscopes . . . . .	132
Loupe et spectroscopie. . . . .	136
Microspectroscopie du sang . . . . .	137
Hématoscope micrométrique pour le dosage de l'oxyhémoglobine . . . . .	138
Sang des nouveau-nés . . . . .	139
Échelle hématoscopique pour le sang concentré.	148

## CHAPITRE VIII

<i>Analyse diaphanométrique du sang, Lactoscopie.</i>	149
Analyse diaphanométrique . . . . .	150



	Pages
Hématoscope d'émail . . . . .	150
Superposition des Hématoscopes . . . . .	151
Indications diaphanométriques . . . . .	152
Comparaison des résultats hémato-spectroscopiques et diaphanométriques. . . . .	153
La Lactoscopie avec les Hématoscopes . . . . .	154
Applications à l'examen des nourrices . . . . .	155

## CHAPITRE IX

<i>Spectrophotométrie</i> . . . . .	157
Spectrophotomètre différentiel de d'Arsonval . . . . .	158
Disposition de l'appareil pour l'étude . . . . .	161
Sensibilité du spectrophotomètre . . . . .	164
Spectrophotométrie du sang . . . . .	165
Spectrophotométrie du carmin et des diverses matières colorantes . . . . .	166

## CHAPITRE X

<i>Bibliographie</i> . . . . .	169
I. Bibliographie historique . . . . .	169
II. Spectroscopie du sang . . . . .	174
III. Spectroscopie des organes . . . . .	182
IV. Spectroscopie des humeurs . . . . .	183
V. Spectroscopie du sérum et des hémolymphes . . . . .	186
VI. Spectroscopie de la bile . . . . .	185
VII. Spectroscopie de l'urine . . . . .	188
VIII. Spectroscopie des produits médiats . . . . .	191
IX. Spectroscopie des pigments . . . . .	192
X. Technique . . . . .	193

## TABLE DES FIGURES

### I

#### SPECTROSCOPIE DU SANG

	Pages
Fig. 1. — Spectroscope à vision directe . . .	25
Fig. 2. — Coupe du spectroscope à vision directe . . . . .	25
Fig. 3. — Marche des rayons dans le prisme composé à vision directe . . . .	26
Fig. 4. — Diaphragme du spectroscope . . . .	28
Fig. 5. — Echelle des raies de Fraunhofer et des couleurs du spectre . . . .	33
Fig. 6. — Hématoscope vu de face . . . . .	65
Fig. 7. — Coupe de l'hématoscope . . . . .	65
Fig. 8. — Maniement de l'hématoscope . . . .	68
Fig. 9. — Tableau des phénomènes spectroscopiques du sang à diverses épaisseurs . . . . .	71
Fig. 10. — Phénomènes spectroscopiques du sang dans l'hématoscope en sens vertical . . . . .	73
Fig. 11. — Phénomène des deux bandes caractéristiques . . . . .	75
Fig. 12. — Hématospectroscope d'Hénocque à échelle latérale . . . . .	83
Fig. 13. — Échelle de concordance . . . . .	83
Fig. 14. — Hématospectroscope grand modèle .	86



	Pages
Fig. 15. — Hématospectroscope de l'étudiant .	89
Fig. 16. — Hémoglobine réduite examinée à des épaisseurs variables . . . . .	129
Fig. 17. — Caractères spectroscopiques des dé- rivés de l'hémoglobine . . . . .	147
Fig. 18 et 19. — Comparaison du phénomène des deux bandes dans le sang oxy- carboné et le sang oxygéné . . . . .	154
Fig. 20. — Phénomènes de la réduction de l'oxyhémoglobine observés à tra- vers l'ongle du pouce . . . . .	164
Fig. 21. — Courbes comparées de la tempéra- ture et de l'activité de la réduction dans la fièvre typhoïde. . . . .	188

## II

SPECTROSCOPE DES ORGANES DES TISSUS  
ET DES HUMEURS

Fig. 1. — Spectre des verres jaunes de l'ana- lyseur chromatique . . . . .	11
Fig. 2. — Spectre de l'ongle pour 11 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> d'oxy- hémoglobine. . . . .	13
Fig. 3. — Hématospectroscope à Analyseur chromatique . . . . .	14
Fig. 4. — Spectre du verre bleu condensateur et spectre de l'ongle . . . . .	16
Fig. 5. — Ophtalmospectroscope. . . . .	31
Fig. 6. — Ophtalmospectroscope perfectionnée	33
Fig. 7. — Spectre de la myohématine . . . . .	50
Fig. 8. — Spectre de l'hémocyanine . . . . .	81
Fig. 9. — Spectre de la réaction de Gmelin .	111

	Pages
Fig. 10. — Spectre de la cholo-hématine . . .	117
Fig. 11. — Spectre de la réaction de Pettenko- fer . . . . .	137

## III

## SPECTROSCOPIE DE L'URINE ET DES PIGMENTS

Fig. 1. — Spectre de l'urobiline normale. . .	19
Fig. 2. — Spectre de l'urobiline pathologique. . .	37
Fig. 3. — Indican . . . . .	44
Fig. 4. — Spectres de l'urospectrine . . . .	50
Fig. 5. — Urohématoporphyrine . . . . .	58
Fig. 6. — Spectre de la stercobiline. . . . .	82
Fig. 7. — Spectre de l'ovolutéine . . . . .	90
Fig. 8. — Pigment de l'aplysie . . . . .	98
Fig. 9. — Spectres du carmin et de l'oxyhémoglobine . . . . .	103
Fig. 10. — Chlorophylle . . . . .	107
Fig. 11. — Spectroscope à éclairage électrique. . .	124
Fig. 12. — Examen à épaisseur variable. . . .	128
Fig. 13. — Urospectroscope . . . . .	129
Fig. 14. — Hématoscope d'émail . . . . .	150
Fig. 15. — Hématoscope de verre superposé à l'hématoscope d'émail . . . . .	151
Fig. 16. — Spectrophotomètre différentiel de d'Arsonval . . . . .	158
Fig. 17. — Disposition de l'appareil . . . . .	161

---



Imp. DESTENAY, BUSSIÈRE frères. St-Amand (Cher).