

SUR LE DOSAGE DE L'AMMONIAQUE DANS LE SANG (*).

PIETRO TULLIO et FRANCESCO ANDRINI

*(Institut de Physiologie et Chimie biologique de la R. Université de Messina
dirigé par le Prof. P. TULLIO).*

(Avec une fig. d. l. t.)

Pour extraire et, ensuite, pour doser l' NH_3 dans le sang on a employé toutes les méthodes qu'on avait suivies pour le O_2 et pour le CO_2 du sang, c'est-à-dire la diffusion, en laissant s'évaporer l' NH_3 par la surface libre du sang; le gargouillement de l'air ou de la vapeur d'eau à travers le sang pour en faciliter l'évaporation; le vide fait à la surface du sang; le réchauffement du sang; la distillation du sang, goutte à goutte, dans le vide; l'adjonction d'alcalis qui déplacent chimiquement l' NH_3 des composés qu'elle forme. Les résultats, très discordants entre eux, qu'on a obtenus par ces méthodes sont dûs surtout aux facteurs suivants: 1° température du sang; 2° diminution de la pression; 3° quantité et nature des alcalis; 4° période de temps qui s'écoule entre la sortie du sang des vaisseaux et l'extraction de l' NH_3 .

NENKI et ZALESKY relevèrent des valeurs très fortes en suivant la méthode de SCHLÖSING, employée pour les urines, c'est-à-dire en laissant évaporer l' NH_3 sous une cloche de verre après y avoir ajouté de l'oxyde de calcium. Pour faciliter cette opération il distillèrent le sang dans le vide, à la t° de 38°-40°, et ils obtinrent des valeurs plus faibles. Ils remplacèrent ensuite l'oxyde de calcium par l'oxyde de magnésium et même il distillèrent le sang défibriné, l'alcalinité du sang étant suffisante à déplacer l' NH_3 .

En 1902 FOLIN a extrait l' NH_3 en aérant le sang maintenu à 0° avec adjonction de Na_2CO_3 et de NaCl ; il dosait colorimétriquement l' NH_3 ; en des recherches faites en 1912 avec de petites quantités de sang qu'on aérail pendant 20-30 minutes, il obtint des valeurs très faibles.

BECCARI (1905), pour éliminer l'inconvénient de la formation de l'écume dans le matras, distilla le sang en de petites quantités, peu à peu, moyennant un tube capillaire, dans un matras, où la pression

(*) *Archivio di Scienze Biologiche*, XIX, 602-625, 1934 (XII) avec 2 figg. d.l.t.

— Pour la Bibliographie voir la note complète.

était continuellement tenue à 15-20 mm de Hg, en employant une pompe à eau, la t° étant tenue à 38° - 40° . De cette manière on peut facilement distiller 30-40 gr de sang défibriné à l'heure. La goutte de sang parvient à l'extrémité du capillaire, dans le matras, forme de grosses bulles de gaz qui éclatent en gouttes sur les parois et s'évaporent rapidement et complètement, et laissent un résidu sec adhérent à la parois du matras. La vapeur qu'entraîne l' NH_3 passe, sans être refroidie, à travers la solution acide titrée.

Avec des distillations de la durée de 2 hh. 20' à 4 hh. 15', BECCARI trouva une valeur de 0,79. Il n'ajouta rien au sang, en laissant évaporer l' NH_3 par son alcalinité. La distillation totale du sang, goutte à goutte, moyennant le tube capillaire employé pour la première fois par BECCARI, nous semble être le plus grand progrès qu'on ait fait jusqu'ici dans la technique du dosage de l' NH_3 du sang. TULLIO suivit la méthode BECCARI pour établir la quantité d' NH_3 qu'il y a dans l'homme pendant le repos et celle qu'il y a pendant le travail musculaire. On ôtait le sang de la veine céphalique du bras, d'abord en tenant les muscles de l'avant-bras en repos, ensuite en faisant de fortes contractions. À la t° de 38° - 40° , avec une distillation de 3 hh. environ, il remarqua une légère augmentation de l' NH_3 dans le sang pendant le travail musculaire.

HENRIQUEZ et CHRISTIANSEN ajoutèrent de l'alcool éthylique au sang pour éviter les putréfactions et les fermentations; et, après une aération de 3 hh., ils eurent des valeurs intermédiaires entre celles qu'avait obtenues FOLIN et celles qu'avait obtenues BECCARI; en augmentant la t° pendant l'extraction, la teneur en NH_3 augmente.

NASCH et BENEDICT, mirent en liberté l' NH_3 en ajoutant du carbonate et de l'oxalate de K, après aération. Ils trouvèrent dans les veines rénales des valeurs supérieures à celles qu'on avait trouvées dans le sang artériel.

PARNAS et HELLER (1924) élaborèrent une méthode dont on se sert beaucoup aujourd'hui. A travers le sang convenablement alcalinisé on fait passer de la vapeur d'eau qui gargouille dans le sang à la pression atmosphérique normale; elle se condense ensuite par refroidissement.

Avec 2 cc de sang, - en 3-5 minutes - à la t° de 17° - 25° et à la pression de mm 25, on peut recueillir 4-5 cc d'eau dans l'éprouvette, qui contient la sol. acide titrée. Le microdistillateur dont ces AA. se sont servis avait été construit d'après le modèle du microKjeldahl de

PREGL. Les 2 cc de sang passent des vaisseaux sanguines dans des petits tubes poudrés avec de l'oxalate de lithium et couverts avec 2 cc de paraffine liquide qui empêche la formation de bulles. Après avoir ajouté la sol. alcaline, dont nous parlerons ensuite, on fait passer de la vapeur d'eau à travers le sang, pendant 3-4 minutes. Le titrage est fait ensuite colorimétriquement en employant le réactif de NESSLER.

Avant la distillation on fait un essai en ne faisant passer que la vapeur à travers le matras et pour une durée de temps égale, à fin de contrôler la pureté des réactifs et, après la distillation, on en fait une autre pour vérifier si toute l' NH_3 a été extraite du sang.

FONTES et JOVANOVITCH, en distillant 100-120 gr de sang pendant 30'-1h.45' dans un courant de vapeur d'eau à 45°-50°, trouvèrent de toutes petites quantités d' NH_3 , mais PARNAS oppose des objections aux résultats obtenus par ces AA.. GOTLIEB, en faisant gargouiller de l'air à travers le sang, à 0°, trouva des valeurs très basses et dans les veines rénales des valeurs égales à celles qu'il avait trouvées dans les artères. Récemment PARNAS a introduit quelques modifications utiles dans sa méthode et RÖSCH et TE KAMP, avec un distillateur plus petit et en employant comme réactifs le rouge de méthyl et le bleu de méthyl en, démontrèrent qu'en éclairant la rétine sa teneur en NH_3 augmentait de 70 à 580%.

En construisant notre dispositif pour le dosage de l' NH_3 dans le sang, nous avons eu soin de n'avoir besoin d'ajouter quoi que ce fût au sang, car il résulte des expér. de PARNAS que de petites variations du pH suffisent à modifier fortement les résultats: l'alcalinité du sang, variable d'un moment à l'autre, doit libérer, à elle seule, l' NH_3 du sang. Ensuite on doit distiller complètement le sang, ce que l'on obtient en distillant le sang, goutte à goutte, dans le vide, avec l'expédient imaginé par BECCARI, jusqu'à obtenir la dessiccation totale. Nous avons, en outre, cherché à faire durer la distillation le moins possible en employant seulement quelques cc de sang.

Dans ce but nous avons construit un microdistillateur analogue au microKjedhal de PREGL, dans lequel le sang, après évaporation, goutte à goutte, se condense par refroidissement dans la sol. ac. qui recueille l' NH_3 . Pour doser l' NH_3 distillée dans la sol. acide nous avons employé des sol. titrées n/1000 avec l'indicateur de TASHIRO qui donne de bons résultats même avec des sol. très diluées.

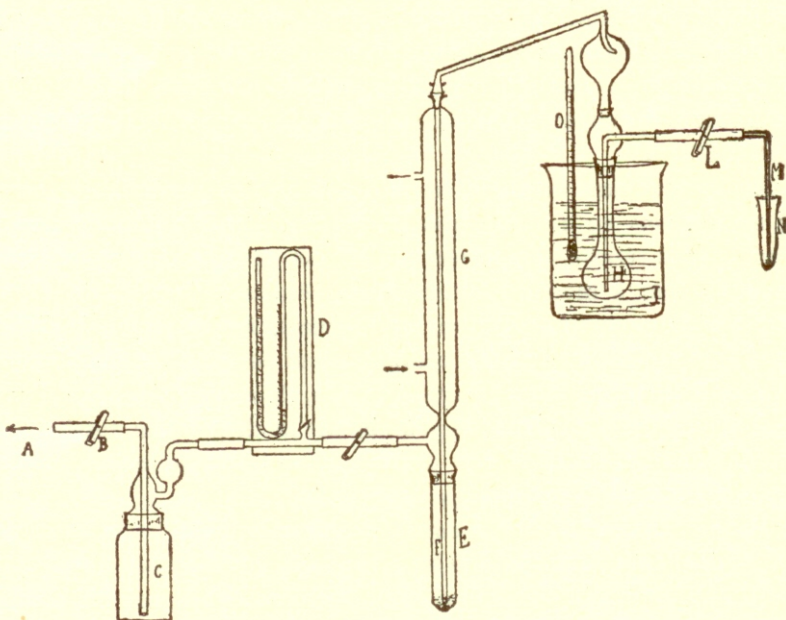
Puisqu'il faut faire le vide dans le matras, avant d'y introduire

le sang goutte à goutte, l'air, comme on le voit dans la fig. de l'appareil, doit gargouiller à travers la sol. acide en altérant ses valeurs à cause des traces éventuelles d' NH_3 . Pour éviter cet inconvénient on fait d'abord un titrage à vide pour déterminer cette erreur qui, dans des conditions égales, s'est révélée constante.

On distille ensuite 5 cc de sang et, tout de suite après, on distille 5 cc d'eau pour entraîner l' NH_3 qui est restée dans le distillateur; opération qu'on fait aussi dans la distillation à vide.

Enfin on fait une troisième distillation de 5 cc. d'eau pour s'assurer que toute l' NH_3 du distillateur a passé dans la sol. acide. Généralement cette épreuve, pour le sang qui contient peu d' NH_3 donne le même résultat que la première qui a été faite à vide. On ajoute les quantités qu'on peut trouver éventuellement en plus à l' NH_3 trouvée dans la seconde distillation.

Appareil. - L'appareil est tout en verre de Iéna et avec des rac-



cords en verre à l'émeri. Comme on voit dans la fig. il est formés des parties suivantes: A, pompe aspirante; B, petite pincette; C, flacon pour empêcher le débordement éventuel de l'eau; D, manomètre à Hg; E, gros-

se éprouvette dans laquelle on met la sol. acide; F, tube qui pêche dans l'acide; G, distillateur dans lequel circule de l'eau froide; H, matras Kjeldahl de 150 cc qui sert pour la distillation du sang; I, verre dans lequel l'eau est maintenue à une t° constante; L, pincette; M, tube capillaire par lequel on aspire le sang; N, petite éprouvette destinée à contenir le le sang à distiller; O, thermomètre.

Manière de se servir de l'appareil. — On rince les différentes parties de l'appareil, on les unit entre elles, ayant soin de couvrir tous les raccords à l'émeri avec de la graisse qu'on emploie pour les machines pneumatiques. Lorsque l'appareil a été monté, on s'assure de la parfaite jonction de tous les raccords, en faisant le vide dans chaque partie de l'appareil, en partant de celles qui sont plus voisines au manomètre. Enfin, avec une bonne pompe aspirante, on réduit au minimum la pression dans l'appareil (nous avons obtenu 15 mm Hg en deux minutes environ); on porte, ensuite, l'eau de l'éprouvette à la t° voulue. L'appareil est alors prêt pour la distillation.

D'abord on distille seulement de l'eau neutre pour laver l'appareil. Pour faire cette opération on remplit d'eau l'éprouvette N; en ouvrant opportunément la pincette L, l'eau est aspirée dans le petit ballon H. L'eau doit arriver goutte à goutte de manière à ce qu'elle s'évapore tout de suite. Les vapeurs parviennent, ensuite, dans le réfrigérant G, dans lequel circule l'eau froide, qui, en se condensant, tombe dans la grosse éprouvette E. On fait fonctionner l'appareil pendant quelques heures.

Pour reporter l'appareil à la pression du milieu, on ferme d'abord la pincette B et, ensuite, le robinet de la pompe, pour éviter que l'eau ne regorge dans la bouteille C, à cause de la différence de pression. On retire l'éprouvette N et, en manœuvrant la petite pincette L, on fait entrer l'air, peu à peu, jusqu'au rétablissement de l'équilibre avec la pression externe.

On conseille de répéter plusieurs fois cette opération, pour bien laver l'appareil et pour en prendre la pratique.

On fait ensuite l'épreuve à vide, qui précède la distillation du sang. On met, dans la grosse éprouvette E, 5 cc d' H_2SO_4 1/1000, et on unit l'éprouvette à l'appareil. Après avoir fait le vide dans l'appareil, on distille 5 cc d'eau, après quoi on reporte l'appareil à la pression normale, ayant soin de faire entrer l'air peu à peu de manière à ne pas faire éclabousser trop haut le long des parois l'acide contenu dans la

grosse éprouvette, attendu que l'air y gargouille à travers le tube F pour passer dans la partie de l'appareil qui se trouve à sa gauche.

Lorsque l'équilibre est rétabli on détache la grosse éprouvette E, mais on ne l'éloigne pas, parce qu'il faut recueillir dans cette même éprouvette le peu de sol. titrée, résidué dans cette partie du tube F qui pêchait dans la sol. même, et quelques autres gouttelettes qui se sont éventuellement déposées le long de ce tube, lorsqu'on a fait gargouiller l'air. Pour faire cela on lave trois fois le tube avec une fiole à jet, à la pointe bien fine, en soufflant chaque fois dans le tube capillaire M, pour faire tomber cette goutte qui, par adhésion et par capillarité, s'est déposée dans l'extrémité du tube F.

On passe ensuite au titrage. S'il n'y a pas eu d'erreurs de technique, l'acide doit être neutralisé par une quantité égale de soude, soit p. 5 cc..

Toutefois nous avons constaté que dans le titrage manquent environ 0,10 cc. d'acide, sol. n/1000, de sorte que cc. 4,90 de soude suffisaient à neutraliser la solution.

Cette différence est due en partie au gargouillement de l'air dans la sol. qui se produit lorsqu'on enlève ou lorsqu'on introduit l'air dans l'appareil. Il suffit, en effet, de faire gargouiller de l'air dans l'eau neutralisée (avec indicateur) pour faire paraître la coloration verte qui démontre qu'elle est devenue alcaline. Cette valeur de cc 0,10, qui est presque constante, doit être ensuite déduite de la seconde distillation faite avec le sang.

Extraction du sang. — Dans nos expér. nous nous sommes presque toujours servis de sang des carotides. L'animal anesthésié avec du chloral et de la morphine, on introduit une canule en verre dans la carotide, après avoir mis de tout petits cristaux d'oxalate de K soit dans la canule soit dans le récipient où l'on recueille le sang.

A peine on a extrait le sang, on l'agite et on le défibrine avec une baguette en verre; cette opération exige environ 1 minute. On met, ensuite, 5 cc de ce sang dans la petite éprouvette et on commence la distillation. L'appareil doit déjà être prêt à la pression minima et avec l'eau du verre à la t° voulue, t° qui doit être constante pendant toute la durée de la distillation.

L'extraction du sang doit être faite avec le matériel en verre parfaitement neutre. Il faut, en outre, éviter la coagulation du sang.

Distillation du sang. — Une minute après l'extraction on aspire dans une pipette calibrée 5 cc de sang et on les verse dans la petite éprou-

vette N: on fait couler le sang, goutte à goutte, dans le matras H; chaque goutte, à peine sortie du tube capillaire, se dessèche instantanément en venant en contact avec les parois chaudes du matras. Il ne faut pas laisser se déposer du sang dans le fond; on y arrive en manœuvrant opportunément la petite pincette L.

La t° dans le récipient I doit être maintenue constante. La distillation du sang dure 3 ou 4 minutes; quand elle est finie, on remplit avec de l'eau distillée la pipette avec laquelle on avait mesuré le sang, on verse dans la petite éprouvette N et on distille. L'adjonction de cette eau a l'avantage d'utiliser le peu de sang qui était resté sur les parois de la pipette et de laver le tube intérieur du réfrigérant.

Lorsque le résidu du sang est bien sec on peut retirer la grosse éprouvette, ayant soin de faire pénétrer l'air graduellement et de laver le tube F. On procède, immédiatement après, au titrage.

On met 7 gouttes d'indicateur dans la grosse éprouvette et on fait le titrage avec la soude.

Après ce titrage on fait une seconde épreuve à vide avec 5 cc d'eau neutralisée, pour s'assurer qu'il n'est pas resté de NH_3 dans l'appareil; on fait le titrage aussi de cette épreuve et on ajoute au résultat de la 1^{ière} épreuve la petite quantité d'acide neutralisé qu'on trouve dans la seconde. Cette quantité est bien petite et presque toujours constante. Lorsqu'on expérimente avec du sang distillé à peine extrait, elle est d'environ $\text{cc } 0,03 \approx 0,02$ de $1/1000$ N. Elle augmente, si l' NH_3 du sang est en plus forte quantité; mais, en général, elle ne dépasse guère 0,06 cc. Cette quantité tout à fait exiguë nous assure que dans l'appareil il ne reste plus d' NH_3 .

On prépare l'indicateur en faisant dissoudre gr 0,12 de rouge de méthyl (E. Merck) en 100 cc d'alcool à 50% et gr 0,1 de bleu de méthylène (Grubler) en 100 cc d'alcool à 50%. On mélange 3 parties de la sol. de bleu de méthylène avec 10 parties de la sol. de rouge de méthyl. Pour faire la sol. de l'indicateur, il faut employer de l'alcool neutre qu'on obtient en neutralisant par NaOH l'alcool du commerce en présence de phénolphthaléine.

On le conserve dans des récipients fermés et on doit le préparer en quantité suffisante pour toutes les expér. que l'on veut faire, attendu qu'il est presque impossible d'avoir deux indicateurs qui donnent les mêmes nuances de couleur.

Cet indicateur est très sensible et donne de bons résultats même

avec des sol. très diluées comme à $1/_{2500}$ normale. En sa présence les sol. acides se colorent en rouge grenade. La sol. acide est neutralisée par la sol. alcaline, elle conserve assez longtemps sa couleur et, seulement peu avant de virer, le rouge commence à déteindre peu à peu pour devenir incolore ou légèrement jaunâtre, une fois atteinte la neutralisation. En devenant alcaline elle prend une couleur verte de plus en plus intense.

Nous avons ainsi une gamme de couleurs qui va du rouge au vert; blanc à l'état neutre.

Le passage de l'acidité à l'alcalinité se faisant à travers une série de graduations différentes d'intensité et de couleur, on peut établir avec précision le degré de la solution.

La quantité de l'indicateur à mettre dans les sol. varie selon la quantité du liquide. Pour une quantité d'environ 15 cc de liquide nous en avons toujours employé 6-7 gouttes. De toute manière la coloration ne doit être ni trop faible ni trop forte.

Pendant toutes les opérations il faut avoir soin de ne pas modifier la neutralité de l'indicateur; il faut donc appuyer, exclusivement sur des surfaces neutres, la pointe du compte-goutte et le bouchon qui se trouve continuellement à contact avec le réactif.

L'indicateur doit tomber dans le liquide de l'éprouvette au moment de faire le dosage. En outre il faut mélanger bien pour avoir une couleur uniforme.

Préparation des solutions. - Nous avons toujours employé des sol. normales de H_2SO_4 et de $NaOH$ diluées à $1/1000$. Pour préparer les sol. susdites il faut employer de l'eau distillée et neutralisée. L'eau, après une première distillation, est distillée de nouveau dans un distillateur en verre de Iena; puis elle est neutralisée avec le contrôle du réactif susdit et on la conserve dans des flacons en verre de Iena. Il faut refaire le contrôle chaque fois avant de s'en servir, pour être bien sûrs de sa neutralité. Nous nous sommes servis exclusivement de cette eau pour laver l'appareil et ses accessoires. L'appareil avait été nettoyé préalablement au bichromate de K et à l'eau courante.

Il faut, en outre, contrôler toujours la neutralité de l'appareil, en le remplissant d'eau, ainsi que celle de ses accessoires, et en vérifiant, ensuite, avec l'indicateur la neutralité de l'eau.

Les sol. $1/_{10}$ Normales peuvent servir pendant long temps et on s'en sert pour avoir les sol. $1/_{1000}$ normales. Avec une pipette bien tarée, bien propre, séchée dans le thermostat et parfaitement neutre, on aspire

cc 10 de la sol. $1/_{10}$ Normale, et on les dilue à 1000. Il faut employer la même pipette pour préparer les deux solutions.

On verse les sol. $1/_{1000}$ Normales dans le ballon annexé à la microburette dont le tube gradué de cc 10 est divisé en 500 parties. La microburette est toute en verre de Iena et elle se compose d'un réservoir et de la burette proprement dite. Le liquide passe du réservoir au tube gradué par la pression exercée par l'air introduit avec un insufflateur à travers un tube contenant du chlorure de calcium.

La burette est munie d'un siphon qui la porte automatiquement à zéro: l'excès du réservoir se déverse de sorte que la sol. ne se trouve jamais à contact avec le milieu extérieur.

Les microburettes doivent subir le même traitement que les autres accessoires, c'est-à-dire elles doivent être lavées, neutralisées et essuyées avant de s'en servir, et rincées, ensuite, avec la sol. $1/_{1000}$ Normale, avec laquelle elles doivent être remplies. Il faut avoir présent que dans les microburettes les sol. ne peuvent servir que pour une quinzaine de jours, car elles s'altèrent comme on peut le voir par la comparaison des deux solutions.

Avant l'usage il faut agiter la sol. dans le réservoir de la microburette, parceque, à cause des variations de t^0 , les vapeurs d'eau se condensent sur les parois libres en concentrant ainsi, quoique légèrement, les sol. mêmes. Enfin il faut se servir chaque fois d'une sol. pompée du réservoir et non de celle qui peut éventuellement être restée dans la burette graduée, qu'on doit vider chaque fois. Avant chaque titrage, ou série de titrages, il faut comparer entre elles les deux sol., acide et alcaline, et faire 3 épreuves qui doivent donner des résultats égaux.

Titrage. - Pour pouvoir saisir exactement le point de neutralisation des deux sol., on doit travailler dans une chambre complètement obscure, à la lumière blanche d'une petite lampe "Philips argenta., de 25 w. Nous avons mis devant la lampe un filtre d'environ 18 cm de diamètre pour rendre la lumière plus égale et plus diffuse. En outre il faut mettre sur la table, au-dessous de la grosse éprouvette, une surface blanche: filtre, carreau en émail blanc, etc.. Pour faire le titrage on commence par mettre cc 5 d' H_2SO_4 dans une grosse éprouvette (E de la fig.), ayant soin que la sol. tombe parfaitement au fond et non sur les parois. On ajoute 6 ou 7 gouttes de l'indicateur susdit et on obtient ainsi une belle couleur rouge grenade; ensuite, on fait tomber, goutte à goutte, dans la grosse éprouvette, la sol. alcaline, jusqu'à ce que le liquide commence à se décolorer.

Arrivés à ce point on porte la grosse éprouvette devant la lumière blanche de la lampe, chaque fois qu'on ajoute une goutte de soude pour bien reconnaître la couleur. La neutralisation obtenue, c'est-à-dire quand la sol. est incolore ou légèrement jaunâtre, on lit sur la burette la quantité de soude employée, quantité qui sert à établir le titrage réciproque des deux solutions. On répète l'opération avec une autre grosse éprouvette et ces deux épreuves serviront de contrôle pour établir exactement la tonalité chromatique de sol. pour le 3^{ème} titrage qu'on fera avec les 15 cc qui contiennent l' NH_3 distillée. Pour comparer plus facilement la couleur des 3 grosses éprouvettes, nous avons construit un petit châssis en bois dans lequel ces 3 éprouvettes sont tenues une à côté de l'autre en mettant au milieu celle qui contient l'ammoniaque.

De cette manière, après les avoir remplies, avant d'arriver à la neutralisation, avec la même quantité de liquide on les agite contemporainement, en ajoutant à celle du milieu la sol. alcaline jusqu'à ce qu'elle ait la même couleur que les autres. Si l'on ajoute encore une goutte, on voit le liquide prendre immédiatement une couleur légèrement verdâtre.

Résultats. - Nous avons fait les expér. sur des chiens et sur des lapins à jeun depuis 12 hh au moins; en outre nous avons varié la t^o de distillation et le temps écoulé après l'extraction du sang. Pendant la distillation le sang, dans la petite éprouvette, était toujours à t^o d'environ 15°.

Nous rapportons ici 3 expériences faites, une après l'autre, avec le sang du même chien.

TABLEAU I. - Chien de 12 Kg. - t^o de distillation 40°; durée 4'30".

Cc de sol. N/1000 de H_2SO_4 , neutralisés dans la 1 ^{ière} distil. à vide	Cc neutralisés dans la 2 ^{ème} distil. avec le sang	Cc neutralisés dans la 3 ^{ème} distil.	Cc neutralisés par l' NH_3 dans le sang	Cc de NH_3 pour 100 Cc de sang
0,10	0,42	0,10	0,32	0,109
0,10	0,40	0,11	0,31	0,105
0,10	0,38	0,12	0,30	0,102

Nous référons aussi dans le tableau II les expér. faites sur le lapin et dans le tableau III celles qui ont été faites sur le chien.

TABLEAU II. — Lapin — t^0 de distil. 40^0 .

Date	Temps, en minutes, depuis extraction	Durée, en minutes, de la distillation	mg de NH_3 en cc 100 de sang
9-11-933	1	4	0,115
16-11-933	1	4	0,109
9-12-932	8	7	0,144
15-12-932	10	6	0,135
1-12-932	10	6	0,178
6-12-932	12	5	0,182

Une minute après la sortie du sang des vaisseaux (durée de l'extraction 4', à la t^0 de 38^0 - 40^0), on eut 0,109-0,115.

TABLEAU III. — Chien.

Temps depuis extraction = 1' — temps de distil. = 4' — t^0 de distil. = 40^0 .

Date	mg de NH_3 en 100 cc de sang
20-2-1933	0,091
21-2-1933	0,087
23-2-1933	0,098
25-2-1933	0,081
27-2-1933	0,093
28-2-1933	0,101
2-3-1933	0,085
2-3-1933	0,089
	Moyenne 0,091

Une minute après la sortie du sang des vaisseaux, durée 4', à 40^0 , on obtint 0,081-0,101, avec une moyenne de 0,091.

Enfin dans le tableau IV nous rapportons les données obtenues dans le chien et dans le lapin, à la t^0 de distillation de 25^0 .

TABLEAU IV. - Temps depuis extraction = 1'; t° de distil. = 25°: temps de distil. = 7'.

C H I E N		L A P I N	
D a t e	mg de NH ₃ en cc 100 de sang	D a t e	mg de NH ₃ en cc 100 de sang
9-3-1933	0,071	6-3-1933	0,095
11-3-1933	0,083	7-3-1933	0,093
13-3-1933	0,068	8-3-1933	0,098
17-3-1933	0,077		
	Moyenne 0,075		Moyenne 0,095

Comme on le voit, si on diminue la t° à laquelle on fait la distillation, diminue aussi la quantité de NH₃ extraite du sang. Dans le chien on a une moyenne de 0,075; dans le lapin de 0,095.

Pour ce qui se rapporte au temps passé depuis l'extraction et pendant lequel le sang est resté à la t° du milieu, nous référons les données suivantes (Voir Tableau V).

A 40° l'NH₃ passe de 0,088-0,094 jusque à 0,550 après 28 hh. de permanence du sang en repos à la t° du milieu.

L'NH₃ diminue si l'on diminue la t° de distillation (Voir Tableau VI).

Le taux ammoniacal, à 25° s'élève de 0,061-0,75 jusqu'à 0,214 après 9 hh. de repos du sang; à la t° de 40°, en 9 hh., le taux était monté à 0,297.

TABLEAU V. - Chien - T = 40°.

Date	Temps depuis extraction	Temps di distil.	mg de NH ₃ en cc 100 de sang
17-3-1933	1'	5'	0,088
"	30'	5'	0,119
"	1h	4'	0,158
"	2h	4'	0,193
"	5h	4'	0,247
24-3-1933	1'	4'	0,091
"	30'	4'	0,124
"	1h	4'	0,171
"	3h	4'	0,215
"	5h	4'	0,231
"	7h	4'	0,255
"	9h	4'	0,292
25-3-1933	1'	4'	0,094
"	30'	3'30''	0,122
"	1h	3'30''	0,170
"	2h	3'30''	0,190
"	3h	3'30''	0,224
"	5h	3'30''	0,265
"	7h	3'30''	0,278
"	9h	3'30''	0,297
"	23h	3'30''	0,472
26-3-1933	25h	3'30''	0,498
"	28h	3'30''	0,550

TABLEAU VI - Chien - t° 25° - Temps de distil. = 3'30".

D a t e	Temps depuis extraction	mg de NH ₃ en cc 100 de sang
7-4-1933	1'	0,082
"	30'	0,101
"	1h	0,133
8-4-1933	1'	0,075
"	30'	0,099
"	1h	0,121
10-4-1933	1'	0,061
"	30'	0,082
"	1h	0,109
11-4-1933	1'	0,073
"	30'	0,097
"	1h	0,122
"	3h	0,156
"	5h	0,183
"	7h	0,197
"	9h	0,214

A 25° le taux ammoniacal passe de 0,093 à 0,991 en 7 hh.

Les valeurs trouvées ont toujours été plus grandes pour le lapin que pour le chien, soit lorsque le sang venait d'être extrait soit après une longue exposition à la t° de la chambre.

Nous avons aussi voulu extraire l'NH₃ du sang en le faisant arriver directement de l'artère au tube capillaire et tomber, goutte à goutte, dans le matras de distillation, éliminant ainsi complètement l'erreur qu'on fait en laissant écouler du temps depuis l'extraction, étant connues les altérations autolitiques et fermentatives du sang.

TABLEAU VII. - Lapin - t° 40° - temps de distil. 3'30''.

Date	Temps depuis extraction	mg de NH ₃ en cc 100 de sang
27-3-1933	15'	0,156
"	4h	0,693
28-3-1933	15'	0,186
"	3h	0,513
29-3-1933	10'	0,165
"	3h	0,671
30-3-1933	10'	0,147
"	3h	0,531
31-3-1933	2'	0,125
"	1h	0,383
1-4-1933	1'	0,133
"	3'	0,487
3-4-1933	1'	0,115
"	30'	0,257
"	1h	0,438
"	3h	0,688
"	5h	1,071
"	7h	2,176
"	24	2,101

Le taux ammoniacal passe de 0,115 à 2,101 en 24 hh.

Pour cela on dut modifier légèrement l'appareil en supprimant l'éprouvette N et le tube capillaire M. On appliqua, immédiatement après la pincette L, un tube capillaire de 3 cm de longueur pour régler l'afflux du sang, un tube en gomme, portant à l'extrémité la canule qu'on doit introduire dans la carotide de l'animal. De l'extrémité de cette canule à la pincette L il ne doit pas y avoir plus de 15 cm.

TABLEAU VIII - Lapin - t° distil. 25° - durée de la distil. 3'30".

D a t e	Temps depuis extraction	mg de NH ₃ en cc 100 de sang
13-4-1933	1'	0,105
"	30'	0,187
"	1 ^h	0,351
"	3 ^h	0,715
14-4-1933	1 ^h	0,092
"	30'	0,181
"	1 ^h	0,415
15-4-1933	1'	0,093
"	30'	0,176
"	1 ^h	0,382
"	3 ^h	0,590
"	5 ^h	0,790
"	7 ^h	0,991

L'appareil et l'animal étant prêts, on n'a qu'à appliquer la canule, la lier à la carotide et à régler avec la pincette L l'afflux du sang goutte à goutte, selon les instructions données. Il n'est pas superflu de rappeler que les nouveaux tubes employés pour cette expér. doivent être, comme d'habitude, bien nettoyés, neutralisés et qu'ils doivent contenir quelques petites parcelles d'oxalate de Na. Pour éviter la coagulation, il faut faire en sorte que le sang soit toujours en mouvement doux, et qu'il ne s'arrête pas dans les tubes.

On comprend facilement que cette extraction ne permet pas de mesurer d'avance les 5 cc de sang et que pour cela il faut indirectement établir ou retrouver la quantité distillée. Pour cela nous avons employé le résidu sec qui reste après la distillation du sang. En effet, nous avons soigneusement pesé le résidu qu'on obtient de la distillation de 5 cc de sang, après que ce résidu a été bien desséché. Nous

avons trouvé qu'à chaque cc de sang correspondent environ gr 0,218, c'est-à-dire gr 1,090 pour cc 5 de sang.

Dans la distillation directe et à 37°, on fait distiller pendant 4', temps ordinairement nécessaire pour distiller 5 cc de sang. En connaissant le poids du résidu de la distillation d'1 cc de sang, il est facile de retrouver la quantité de sang distillé, en partant du poids du résidu sec, duquel on obtient, comme d'habitude, la quantité de NH_3 pour cc 100 de sang.

On peut avoir une essiccation rapide en mettant le matras H dans le thermostat la t° duquel ne doit pas dépasser 100°, ou, mieux encore, on peut le laisser uni à l'appareil, y faire le vide, et chauffer opportunément l'eau à 90°-100°.

TABLEAU IX. - Durée de distil. 4'; t° de distil. 37°.

Chien	Date	Résidu sec du sang distil. gr	Résidu sec de 5 cc de sang gr	Sang distillé cc	mg de NH_3 en 100 de sang
1	1-8-933	1,078	1,090	4,94	0,080
	2-8-933	0,950	1,088	4,37	0,085
2	3-8-933	1,127	1,085	5,19	0,078
3	4-8-933	1,005	1,092	4,61	0,061
	5-8-933	1,250	1,091	5,73	0,083
4	7-8-933	1,307	1,089	5,90	0,090
	8-8-933	1,153	1,090	5,28	0,079

À 37° le taux d' NH_3 a été, en moyenne, de 0,081, tandis que, une minute après l'extraction et à 40°, il a été de 0,091.

* * *

Notre dispositif présente les avantages suivants :

1) la possibilité de faire, dans le vide, goutte à goutte, une distillation totale du sang intègre ou hémolysé, moyennant le tube capillaire;

2) de pouvoir faire passer directement le sang du vaisseau de l'animal à l'appareil, en supprimant ainsi toute intervalle entre la sortie du sang des vaisseaux et sa distillation;

3) de prélever la quantité de sang que l'on veut, même une quantité remarquable;

4) de faire la distillation à une t° quelconque, même à celle du corps de l'animal, qui nous semble la plus opportune;

5) de libérer l' NH_3 par l'alcalinité du sang, sans y ajouter d'autres substances, qui en altèrent le pH et l'état d'équilibre ionique; et qui pourraient être cause d'erreur à cause de leur impurité;

6) de permettre le titrage rapide colorimétriquement ou par titrage.
