

À propos du dosage des amino-acides du sérum sanguin par la tyrosinase

Autor(en): **Mirimanoff, André / Perrottet, Ernest**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **17 (1935)**

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-741622>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

André Mirimanoff et Ernest Perrottet. — *A propos du dosage des amino-acides du sérum sanguin par la tyrosinase.*

Parmi les méthodes de dosage des amino-acides dans le sérum sanguin, deux se signalent par leur simplicité et partant, par leur utilité clinique:

a) La méthode à l'hydrate de tricéto-hydrindène, élaborée par M. le prof. Cherbuliez;

b) La méthode fermentative à la tyrosinase du prof. R. Chodat, que le prof. F. Chodat a appliquée à ce dosage.

L'un de nous ayant eu le privilège de travailler dans les laboratoires de ces savants, il nous a paru intéressant de faire une étude comparative de ces deux méthodes et de préciser par des mesures quantitatives les résultats obtenus précédemment.

I. *Méthode à l'hydrate de tricéto-hydrindène (ninhydrine).*

E. Cherbuliez et Ida Trusfus ont montré qu'en opérant dans des conditions déterminées, l'intensité de la coloration produite par l'action de ce réactif sur les matières protéiques et leurs produits de désagrégation jusqu'aux acides aminés est proportionnelle à la concentration en fonction



d'où la possibilité d'un dosage colorimétrique.

Pour l'élimination des protides et albumoses du sérum, on a recours à la précipitation par le sulfate d'ammonium à saturation.

Sur le conseil de M. le prof. Cherbuliez, nous avons essayé d'autres substances que le sulfate d'ammonium, entre autres l'hydroxyde de zinc et l'acide phosphotungstique.

Avec l'hydroxyde de zinc, dont la présence ne gêne en rien la réaction, la coloration est plus intense qu'avec le sulfate d'ammonium; autrement dit, les substances dégradées non précipitées subsistent en plus forte proportion, et ceci, toutes choses égales, dans le rapport de 2½ à 1.

Avec l'acide phosphotungstique dont l'action précipitante, à l'exception des bases hexoniques, ne doit épargner *grosso modo* que les seuls acides aminés, le mode opératoire se complique du fait que ce réactif en excès gêne la coloration. Il faut donc l'éliminer par du sulfate d'ammonium avant de procéder à la mesure colorimétrique.

Dans ces conditions, nous avons trouvé, pour un sérum normal que la teneur en acides aminés est de l'ordre d'une solution en glyocolle $\frac{N}{2000}$, soit environ le huitième du résultat obtenu en déféquant avec le sulfate d'ammonium.

Des essais à blanc ont permis d'établir l'exactitude et la sensibilité de ces mesures.

II. *Méthode à la tyrosinase.*

R. Chodat, F. Chodat et Kotzareff ont montré qu'avec le réactif paracrésol-tyrosinase les protides dégradés fournissent une réaction colorée rouge dont l'intensité est sensiblement proportionnelle au degré de protéolyse. Lorsque cette dernière a dépassé le stade peptone, la réaction fournit une teinte violacée puis bleue avec dichroïsme rouge, soit le crésol-azur, qui est d'autant plus rapide à apparaître qu'il y a moins de peptones et plus d'acides aminés.

Nous nous sommes proposé, en reprenant cette méthode, d'étudier les points suivants:

1^o Détermination de la sensibilité-limite de la réaction et établissement d'une échelle colorimétrique de référence;

2^o Etude de l'action déféquante progressive de plusieurs réactifs;

3^o Comparaison des résultats obtenus avec la méthode à la ninhydrine.

1^o *Sensibilité et échelle colorimétrique.*

Utilisant comme acide aminé de référence une solution aqueuse de glyocolle, nous avons constaté:

a) Que l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration;

b) Que la réaction est déjà sensible pour une concentration en glyocolle égale à une solution $\frac{N}{4000}$;

c) Que la coloration ne devient violette (crézol-azur) que pour une teneur très forte en acides aminés, donc très supérieure à la valeur $\frac{4N}{1000}$ considérée comme normale.

Il résulte de ces observations que la présence d'acides aminés ne suffit pas à provoquer la coloration crézol-azur, encore une certaine concentration est-elle nécessaire. En d'autres termes, si un sérum non déféqué est traité par le réactif paracrésol-tyrosinase, la coloration rouge obtenue ne permettra pas d'affirmer l'absence d'acides aminés. Ceux-ci pourront être présents en quantité notable sinon anormale. Il pourra donc être utile de procéder à une défécation différentielle.

2° Application de la tyrosinase à des sérums déféqués.

a) *Sulfate d'ammonium*. — Les résultats sont négatifs, ce sel inhibant complètement l'action fermentative de la tyrosinase, sur le sérum comme sur la solution de référence.

b) *Hydroxyde de zinc*. — Même échec dû à des causes analogues.

c) *Acide phosphotungstique*. — Ce réactif ne gêne aucunement l'action du ferment, ce qui a été démontré par des essais à blanc, à condition de neutraliser le filtrat par de la soude caustique avant l'adjonction du paracrésol et de la tyrosinase.

Traité dans les mêmes conditions qu'une solution de référence $\frac{N}{1000}$ de glyocolle, le sérum accuse une teneur en acides aminés environ deux fois plus faible, soit $\frac{N}{2000}$.

3° Comparaison des résultats obtenus avec la méthode à la ninhydrine.

Seuls les résultats obtenus après la défécation à l'acide phosphotungstique sont comparables, étant donné que pour chacune

des deux méthodes, la coloration n'est pas spécifique vis-à-vis des seuls acides aminés.

Dans ces conditions, l'expérience a montré que les résultats obtenus sont du même ordre de grandeur, pour des sérums normaux du moins. Ce résultat montre de plus que le glyco-colle peut être utilisé comme référence, ce qui paraît critiquable de prime abord, d'autres acides aminés étant susceptibles de donner des colorations variables avec le réactif p-crésol-tyrosinase.

Ce qu'il faut conclure de ces essais, c'est la nécessité, surtout pour un sérum pathologique où la teneur des acides aminés peut varier considérablement, de procéder à des dosages par défécation progressive, tant pour l'une que pour l'autre de ces deux méthodes. Si la réaction de la ninhydrine est plus rapide, la méthode à la tyrosinase permet de reconnaître de prime abord et sans défécation un sérum anormal. De plus, elle peut confirmer par voie biologique les données que la méthode chimique a apportées au clinicien.

Mode opératoire.

a) *Pour la ninhydrine*, cf. Cherbuliez et Trusfus.
» Cherbuliez et Mirimanoff.

b) *Pour la tyrosinase* :

1. Sur le sérum tel quel: paracrésol $\frac{1}{250}$ 2 cm³; sérum XXV gouttes, tyrosinase pure: XV gouttes (0,01 gr de ferment dans 2 cm³ de liquide de pH 7).

2. *Dosage différentiel*, par défécation à l'acide phosphotungstique (pour la préparation de la solution d'acide phosphotungstique, confer. Cherbuliez et Mirimanoff) : 1 cc de sérum est additionné de 4 cc d'acide phosphotungstique, agiter et filtrer. Neutraliser 1 partie aliquote du filtrat et opérer comme précédemment, en tenant compte du facteur de dilution.

LITTÉRATURE.

- R. CHODAT, Arch. Soc. Phys. et nat., 33 (1912), n° 1, p. 70.
R. CHODAT et KUMMER, Bioch. Zeitschr., 65 (1914), p. 392.
F. CHODAT et KOTZAREFF, C. R., t. 177 (1923), p. 460.
E. CHERBULIEZ et I. TRUSFUS, Arch. Soc. Phys. et nat., 50 (1933), n° 2.

Note. — Parmi les sérums mis obligeamment à notre disposition par la clinique infantile et la clinique chirurgicale, aucun n'a donné une teneur en acides aminés (calculée en glyco-colle) supérieure à la normalité $\frac{4N}{1000}$.

Cas observés: Rachitisme, débilité infantile, pyélite, affections intestinales (clinique infantile; âge: 3-5 mois). Diabète, urémie, affections intestinales (clinique médicale).

*Laboratoire de Bactériologie et de Fermentation
de l'Institut de Botanique générale, Genève.*

André Mirimanoff. — *Sur les pseudo-facteurs de croissance du moût de raisin.*

Au cours d'un précédent travail sur le « vieillissement » des levures ¹, nous avons observé qu'il importait de standardiser les conditions de croissance offertes par le milieu choisi: le moût de raisin.

En particulier, la température à laquelle le moût est pasteurisé ou stérilisé influe d'une manière prépondérante sur la croissance des levures.

Nos premières observations ont porté d'une part sur du moût pasteurisé à 90 degrés pendant 2 heures, d'autre part, sur ce même moût stérilisé ensuite 1/2 heure à l'autoclave, à 110 degrés.

Mode opératoire:

50 cc de moût sont inoculés par *Endomyces anomalus* et abandonnés à l'étuve à 25 degrés.

Les résultats peuvent se résumer comme suit:

1° Le moût pasteurisé réseite, 20 heures après l'inoculation, un voile continu sur la surface du liquide;

2° Le même moût, stérilisé à 110 degrés, ne commence à montrer un début de développement qu'après 3 jours environ;

¹ F. CHODAT et A. MIRIMANOFF, Arch. Soc. Phys.