

SUR LE RÔLE, DANS L'HÉMOLYSE,  
DE LA CONCENTRATION EN IONS HYDROGÈNE.

PAR

L.-E. WALBUM.

L'action dissolvante qu'exercent les acides et les bases sur les globules rouges du sang est bien connue: l'hémolyse déterminée par les acides aussi bien que celle provoquée par les alcalis ont fait l'objet de recherches multiples. On a constaté ainsi que l'addition aux émulsions sanguines de petites quantités d'acide ou de base ne donnera pas d'hémolyse, les globules rouges fixant une faible proportion d'acide ou de base et empêchant l'hémoglobine de se mêler à la liqueur. Pour que l'hémolyse ait lieu, il faut ajouter des doses plus considérables: une dose déterminée produira une hémolyse totale; l'addition de doses plus grandes encore aura pour effet la décomposition de l'hémoglobine, — décomposition qui en milieu acide se fera connaître par une forte coloration en brun et par la précipitation (coagulation), plus ou moins considérable, des matières albuminoïdes.

Les proportions d'acides ou de bases que retiendront les globules rouges des diverses espèces de sang ont été déterminées par différents auteurs; elles ont été trouvées, pour NaOH et pour NH<sub>3</sub>, par ARRHENIUS et MADSEN (1) dans leurs premiers travaux qui inaugurèrent l'application de la chimie physique à la science de l'immunisation. Cette fixation des acides et des bases par les globules rouges est

assez intime; les quantités fixées sont exactement proportionnelles à celles des globules fixateurs.

Les propriétés hémolytiques des acides et des bases étant dues sans doute exclusivement à l'action d'ions hydrogène ou hydroxyle libres, — et l'aptitude fixatrice d'acides, ou de bases, des diverses émulsions de globules rouges variant d'autre part considérablement, — on s'explique les variations des limites notées pour la production ou la non-production de l'hémolyse.

En recherchant la sensibilité aux acides ou aux bases des diverses espèces de globules rouges, il sera donc rationnel de déterminer, pour chaque mélange considéré, la concentration en ions hydrogène ou hydroxyle, et d'obtenir ainsi une mesure de l'action des acides et des bases.

Les seuls essais, à nous connus, où l'on ait jusqu'à présent tenu compte, à ce point de vue, de la concentration en ions hydrogène, sont ceux effectués par MICHAELIS et TAKAHASHI (9). Ces auteurs ont montré en opérant sur des émulsions de globules rouges de mouton, de cheval, de pigeon et de souris, délayés dans des mélanges d'acide acétique et d'acétate de sodium qui présentaient des concentrations différentes en ions hydrogène, que la sensibilité aux acides est à peu près la même dans les quatre espèces de sang en question, les mélanges d'une concentration ionique inférieure à  $0,7 \cdot 10^{-5}$  ( $p_{\text{H}} = 5,16$ ) ou, du moins, à  $0,4 \cdot 10^{-5}$  ( $p_{\text{H}} = 5,4$ ) n'offrant pas d'hémolyse.

A ma connaissance, on n'a pas effectué de recherches analogues sur la sensibilité aux alcalis des globules rouges.

La présente étude a été entreprise comme travail préparatoire de recherches demandant une connaissance plus approfondie de ces phénomènes.

Le but des premiers essais dont on trouvera les résultats consignés ci-contre, était de montrer le rôle joué par la concentration en ions hydrogène dans l'action de certaines

hémolysines sur les globules rouges de diverses espèces de sang. Parallèlement à chacune des expériences, assez nombreuses, réalisées par l'addition de différentes doses l'hémolysine aux émulsions sanguines en expérience on a en soin d'effectuer une expérience de contrôle avec la même émulsion non additionnée d'hémolysine, et ces expériences de contrôle constituent des matériaux pouvant servir à la détermination de la limite de l'hémolyse alcaline des quatre espèces de globules rouges considérées : de cheval, de bœuf, de mouton, de lapin. Comme il ressort des conditions ci-dessous indiquées pour ces expériences, la limite de l'hémolyse provoquée par les acides ne pouvait pas en être déduite. J'ai donc entrepris, pour la fixer, des essais particuliers où le procédé ne se distinguait de celui adopté dans les expériences dont il sera rendu compte plus loin que par l'addition au sang, exempt d'acide carbonique, de doses progressivement croissantes d'acide, au lieu de doses croissantes de soude.

Dans les tableaux qui font connaître la résistance aux alcalis des globules rouges, on trouvera chaque espèce de sang représentée par quatre expériences, choisies parmi un nombre bien plus considérable d'expériences réalisées. Ensuite je donne en me basant sur toutes les expériences de contrôle y correspondant, les limites de l'hémolyse provoquée

### Résistance aux alcalis.

#### Globules rouges de lapin.

pH	Hémolyse %	pH	Hémolyse %	pH	Hémolyse %	pH	Hémolyse %
6,71	2	7,34	1	7,24	2	7,62	3
7,01	2	7,50	1	7,70	2	7,81	3
7,24	2	7,64	1	7,90	2	8,05	3
7,70	2	7,82	1	8,10	2	8,24	4
8,10	2	7,89	2	8,30	7	8,44	7
8,52	25	8,15	3,5	8,52	25	8,87	45

## Globules rouges de mouton.

P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %
7,44	0	7,56	0	7,14	7	7,04	0
7,65	0	7,92	0	7,40	7	7,35	0
7,94	0	8,18	0	7,65	7	7,58	0
8,10	1	8,43	0	7,90	7	8,01	0
8,32	3	8,68	4	8,14	7	8,27	0
8,50	7	9,18	16	8,65	15	8,41	12

## Globules rouges de cheval.

P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %
7,68	2	7,72	2	7,64	0	7,50	2
7,90	2	7,88	2	7,83	0	7,68	2
8,09	2	8,15	2,5	8,04	0	7,90	2
8,28	2,5	8,36	4	8,25	0	8,12	3
8,46	8	8,55	16	8,48	0	8,31	8
8,87	70	9,00	100	8,85	17	8,74	50

## Globules rouges de bœuf.

P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %	P <sub>H</sub>	Hémolyse %
7,32	2	7,35	2	7,50	0	7,44	4
7,54	2	7,49	2	7,68	0	7,68	4
7,77	2	7,76	2	7,97	0	7,90	4
7,96	2	8,02	2	8,22	0	8,14	4
8,17	2	8,23	2	8,44	2	8,34	4
8,61	20	8,72	14	8,93	65	8,82	45

par les alcalis, et les moyennes de ces limites. Les expériences que j'ai pu faire sur la résistance aux acides des globules rouges sont au nombre de huit; ils ont tous été inscrits. Pour la totalité des expériences, la température a été de 37°, et la durée, de 2 heures.

Résistance aux alcalis dans les diverses expériences.

Globules r. de )	p <sub>H</sub> maximum pour hémolyse nulle (abstraction faite de l'hémolyse spontanée)				p <sub>H</sub> minimum pour hémolyse faible (abstraction faite de l'hémolyse spontanée)			
	Lapin	Mouton	Cheval	Bœuf	Lapin	Mouton	Cheval	Bœuf
	8,05	7,94	7,88	8,17	8,23	8,10	8,15	8,61
	8,10	8,43	8,48	8,23	8,30	8,68	8,85	8,72
	7,82	8,08	7,90	8,22	7,89	8,26	8,12	8,44
	7,74	8,10	8,04	7,99	7,89	8,32	8,13	8,39
	7,76	8,32	7,93	8,05	7,89	8,51	8,13	8,47
	8,05	8,14	8,09	8,34	8,24	8,65	8,28	8,82
	8,10	8,32	8,13	8,32	8,52	8,50	8,31	8,71
	7,82	8,21	8,36	8,21	7,98	8,43	8,65	8,46
	7,80	8,36	8,22	8,20	8,09	8,62	8,42	8,36
	7,98	8,34	8,08	8,18	8,49	8,51	8,61	8,41
	7,77	8,16	7,96	8,24	8,00	8,36	8,11	8,61
	7,77	8,21	7,96	8,17	8,20	8,41	8,16	8,52
	7,84	7,96	8,08		8,25	8,20	8,41	
	7,47		8,16		7,77		8,37	
	8,24				8,63			
Moyenne	7,88	8,20	8,09	8,28	8,16	8,42	8,33	8,54

Ces déterminations de la résistance aux alcalis des globules rouges — pas plus que les suivantes portant sur la résistance aux acides — ne sauraient prétendre à une exactitude absolue, les concentrations en ions hydrogène des divers mélanges présentant des écarts variables et souvent assez importants; il me semble pourtant légitime de croire que les résultats obtenus fournissent une image assez adéquate de la réalité.

De ces expériences il ressort que les quatre espèces de globules ont à peu près la même résistance aux alcalis, avec cette différence toutefois que ceux de lapin sont apparemment d'une sensibilité un peu plus grande que les autres. Dans la manière dont ils se comportent vis-à-vis des acides, la même différence se fait sentir, et d'une façon plus prononcée: les globules rouges de lapin sont notablement

## Résistance aux acides.

## Globules r. de lapin.

p <sub>H</sub>	Hémolyse %	p <sub>H</sub>	Hémolyse %
6,81	0	6,92	0
6,71	0	6,80	0
6,60	0	6,63	0
6,46	0	6,51	0
6,34	4	6,33	3
6,22	8	6,20	10

Pas d'hémolyse à p<sub>H</sub> = 6,5 env.  
Hémolyse faible à p<sub>H</sub> = 6,3 env.

## Globules r. de mouton.

p <sub>H</sub>	Hémolyse %	p <sub>H</sub>	Hémolyse %
5,83	0	5,79	0
5,72	0	5,69	0
5,52	0	5,50	0
5,40	0	5,37	0
5,22	12	5,19	8
5,05	20	5,00	12

Pas d'hémolyse à p<sub>H</sub> = 5,4 env.  
Hémolyse faible à p<sub>H</sub> = 5,2 env.

## Globules r. de cheval.

p <sub>H</sub>	Hémolyse %	p <sub>H</sub>	Hémolyse %
6,01	0	6,08	0
5,94	0	6,00	0
5,82	0	5,86	0
5,70	4	5,69	6
5,58	10	5,54	15
5,38	8 Agglut.	5,39	12 Agglut.

Pas d'hémolyse à p<sub>H</sub> = 5,9 env.  
Hémolyse faible à p<sub>H</sub> = 5,7 env.

## Globules r. de bœuf.

p <sub>H</sub>	Hémolyse %	p <sub>H</sub>	Hémolyse %
6,17	0	6,08	0
6,03	0	6,00	0
5,92	0	5,90	0
5,70	0	5,64	0
5,59	1	5,52	3
5,42	3	5,40	9

Pas d'hémolyse à p<sub>H</sub> = 5,7 env.  
Hémolyse faible à p<sub>H</sub> = 5,5 env.

moins résistants aux acides que les trois autres espèces; de ces dernières c'est encore celle de mouton qui semble offrir la plus grande résistance.

RONDONI (11) observe dans une note, et sans indiquer les détails des essais, que les globules rouges de bœuf se sont montrés plus résistants aux acides que les globules de mouton, tandis que, selon lui, ces derniers seraient plus résistants aux alcalis que les globules de bœuf. Les expériences faites par moi donnent, en ce qui concerne la résistance aux acides, un résultat exactement contraire à celui relevé par Rondoni; quant à la résistance aux alcalis,

elle serait, d'après mes observations, sensiblement égale dans les deux espèces de globules rouges.

Si nous nous proposons d'étudier l'influence exercée par la concentration en ions hydrogène sur l'action de diverses hémolysines, il va de soi que nous faisons abstraction des substances hémolytiques du genre des acides et des bases dont l'action dissolvante est due à la concentration en ions hydrogène (ou en ions hydroxyle) qu'elles déterminent dans les liquides. Les hémolysines qui font l'objet de notre recherche ont une autre sorte d'action, et cette action elles l'exercent même ajoutées en doses très faibles, trop faibles pour engendrer, le plus souvent, des modifications appréciables dans la concentration ionique des émulsions sanguines.

On sait que la réaction de la liqueur traitée joue un rôle — parfois décisif — dans divers processus biologiques, tels que par exemple les processus enzymatiques.

Antérieurement, quand il s'agissait d'étudier l'influence exercée par les acides ou par les bases, on ajoutait tout simplement aux liqueurs en expérience des quantités déterminées d'acide ou de base, et on attribuait à la dose totale de base ou d'acide ajoutés l'action provoquée dans le liquide. Or, la plupart des liqueurs physiologiques renfermant des substances fixatrices d'acide ou de base, on comprend que ce procédé devait donner le plus souvent des résultats trompeurs. Ce n'est qu'après avoir été mis en état de mesurer directement la concentration en ions hydrogène des liqueurs qu'on a pu étudier de plus près l'importance de ce facteur pour les réactions en question.

C'est à S.-P.-L. SÖRENSEN (13, 14) que nous devons la revision critique et l'amélioration des méthodes pour le mesurage de la concentration en ions hydrogène et, aussi, l'établissement du rôle prépondérant joué par cette concen-

tration dans les scissions enzymatiques les plus diverses. Dans les travaux importants qu'il a consacrés à ce sujet, l'auteur nous montre que l'influence de la concentration ionique n'est pas moins considérable que celle de la température, et il fait voir que de même qu'à l'action de chaque enzyme correspond un optimum de température, de même il y a aussi un optimum de concentration en ions hydrogène. SÖRENSEN insiste à plusieurs reprises sur la corrélation étroite qui existe entre les trois facteurs : température ; concentration ionique ; durée, et sur la dépendance qui soumet la marche des processus enzymatiques aux relations mutuelles de ces facteurs. A l'aide de nombreux exemples tirés, soit de la littérature déjà existante, soit des recherches effectuées par l'auteur et par ses collaborateurs, il est montré que la concentration en ions hydrogène est un facteur dont il faut tenir compte non seulement dans les décompositions enzymatiques et autres processus similaires mais dans une multitude variée de processus biologiques.

Dans ses *Études enzymatiques* (II, p. 17) SÖRENSEN fait entrevoir une hypothèse d'après laquelle la concentration ionique serait un facteur intervenant dans n'importe quel processus biologique, et, à en juger par les recherches publiées jusqu'à ce jour, la justesse de cette manière de voir ne fait presque plus de doute.

Il est donc évident que s'il y a un domaine où l'étude de la concentration ionique s'impose et où elle soit peut-être particulièrement urgente, c'est bien celui des recherches sur l'immunité, et, en effet, l'influence de cet agent a déjà fixé l'attention de quelques auteurs. C'est ainsi que le rôle joué dans l'hémolyse par la concentration en ions hydrogène a fait l'objet d'une étude de MICHAELIS et SKWIRSKY (10), qui n'ont toutefois étudié que l'action exercée sur l'hémolyse complexe et trouvé ainsi un optimum de concentration ionique à  $0,6 \cdot 10^{-7}$  ( $p_H = 7,22$ ) des mélanges phospho-



tiques ayant servi de « tampons ». A  $3,8 \cdot 10^{-6}$  ( $p_{H^+} = 5,42$ ) l'hémolyse se trouvait entièrement supprimée. Quant à l'action de la concentration ionique sur les différentes hémolysines, je ne sache pas qu'on ait rien publié là-dessus jusqu'à présent.

Comme la connaissance de ce phénomène intéresse au plus haut point la pratique de ces substances et l'hémolyse occupant en outre une place avancée parmi les réactions utilisées dans les recherches expérimentales sur l'immunité, j'ai entrepris d'étudier la manière dont se comportent sous ce rapport diverses hémolysines, à savoir: l'*épeiralysine*, la *vibriolysine*, la *staphylolysine*, les *hémolysines* de *cobra*, d'*abeille*, de *guêpe*; la *saponine*; l'*oléate* de *sodium*; le *glycocholate* de *sodium*. Les espèces de sang traitées étaient celles de *cheval*, de *bœuf*, de *mouton*, de *lapin*.

Dans ses *Études enzymatiques* (II, p. 17) S.-P.-L. SÖRENSEN préconise l'emploi, dans ce genre d'essais, de ce qu'il appelle des mélanges « tampons ». Il entend par là des mélanges susceptibles de maintenir constante la concentration en ions hydrogène pendant la durée de l'expérience. Un tel « tampon » devra donc être choisi de manière à ce que l'apport de faibles quantités d'acide ou de base n'entraîne que des modifications négligeables de la concentration ionique. Comme tampons on peut se servir de différents mélanges salins (phosphates, carbonates, borates, etc.)<sup>1</sup>; de substances protéiques; ou des produits obtenus par la décomposition de ces dernières.

Évidemment, il n'y a pas que le domaine des études enzymatiques où l'emploi des tampons se montrera utile: il doit être pratiqué toutes les fois qu'on a affaire à des mé-

<sup>1</sup> Des solutions proposées par M. SÖRENSEN comme liqueurs étalons pour le mesurage colorimétrique de la concentration en ions hydrogène (*Études enzymatiques* II) sont tout désignées pour être employées comme tampons.

langes où l'action de la concentration en ions hydrogène joue un rôle important, et surtout dans les essais où il s'agit précisément de mettre en évidence l'action exercée par ce facteur.

Dans les essais portant sur l'hémolyse, les globules rouges du sang en expérience sont habituellement débarrassés de leur sérum, autant que faire se peut, et délayés ensuite dans une solution physiologique de chlorure de sodium à 0,9<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. L'enlèvement du sérum se fait moyennant défibrinage et centrifugation du sang, après quoi le sérum qui surnage est décanté; on délaye les globules rouges dans 2—3 fois leur volume de chlorure de sodium dilué, on centrifuge de nouveau, on décante le sérum étendu qui surnage, etc. Ce lavage est répété 1 ou 2 fois. Le sérum doit être décanté parce que dans beaucoup de cas il entraverait ou annihilerait l'hémolyse, ou bien il modifierait sous d'autres rapports la marche des essais; mais il faut se rendre compte qu'avec le sérum disparaît la protection naturelle des globules contre les variations de la concentration ionique, — en effet, le sérum est un « tampon » excellent —; on devra donc songer à le remplacer par un autre tampon. C'est là une précaution que jusqu'ici on avait négligé de prendre, n'attribuant pas une très grande importance aux variations relativement faibles de la concentration ionique.

Quiconque s'est occupé d'une façon tant soit peu approfondie des hémolysines, a dû s'apercevoir que les expériences avec ces substances sont entachées d'un nombre plus ou moins grand d'erreurs « fortuites »: dans les séries d'expériences où l'on avait mis en œuvre une seule et même quantité d'hémolysine, ou bien des quantités successivement diminuées, s'observaient des discontinuités, certains tubes isolés ou même plusieurs tubes consécutifs présentant par ci par

là une hémolyse plus intense ou plus faible que celle qu'on devrait s'attendre à voir se produire; et il y a quelque raison de penser que ces erreurs « fortuites » sont dues, en partie du moins, à des modifications intervenues dans la concentration ionique des liqueurs par suite de l'absence de tampons. Dans beaucoup de cas, ces erreurs « fortuites » ont été moins fréquentes; il arrive même qu'elles fassent complètement défaut, et cela s'explique probablement souvent par l'addition inconsciente d'un tampon quelconque (sérums antihémolytiques et autres, hémolysines immunisantes, complément de cobaye, etc.) Il me paraît vraisemblable que l'agglutination spontanée des globules qui se produit de temps à autre dans les essais de ce genre doit être souvent attribuée à cette même cause.

J'ai donc trouvé indispensable, pour maintenir constante la concentration en ions hydrogène, d'ajouter un « tampon » à l'émulsion où se trouvaient en suspension les globules rouges, et, étant donné que les sérums des espèces de sang ici traitées ne pouvaient exercer, aux degrés de concentration considérés, aucune influence atténuante ou autrement perturbatrice sur l'action des hémolysines employées, je me suis décidé à laisser aux divers globules leurs tampons naturels qui sont leurs sérums respectifs.

#### Mesurage de la concentration en ions hydrogène.

Au début, les différentes concentrations en ions hydrogène étaient réalisées dans les émulsions de globules par l'addition directe d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium, et les mélanges ainsi obtenus contenant tous de l'acide carbonique à l'état libre (les quantités respectives en étaient moindres, cela va sans dire, dans les mélanges alcalins que dans les mélanges acides), on s'est servi pour la détermination de la concentration en ions hydrogène de l'appa-

reil construit par M. K.-A. HASSELBALCH (6). Malheureusement, cet appareil qui fournit, selon l'auteur, pour le sang non dilué des mesures exactes et constantes ne m'a jamais donné de résultats constants pour les émulsions de globules rouges à 5 %. Les valeurs obtenues se montraient quelquefois très irrégulières, augmentant ou baissant d'une façon assez brusque. Dans les cas où la tension avait diminué, on pouvait les plus souvent la faire remonter (de jusqu'à 50—70 millivolts ou même plus) en ébranlant sans cesse l'appareil à coups de doigts, et à force de secousses données on parvenait à maintenir constante la tension ainsi atteinte; si, au contraire, on cessait d'agiter l'appareil, la tension ne tardait généralement pas à décroître de nouveau plus ou moins vite. Il ne me paraît pas douteux que dans le cas en question la tension relevée ne dépende en partie de l'agitation du liquide. Et, en effet, j'appris en m'adressant à M. S.-P.-L. SÖRENSEN, directeur du Laboratoire de Carlsberg, que des phénomènes analogues avaient déjà été constatés lors de mesurages effectués sur l'eau de mer renfermant de l'acide carbonique et que le Laboratoire de Carlsberg et le Dr HASSELBALCH lui-même avaient déjà institué des recherches tendant à éclairer cette question.<sup>1</sup>

On a donc été obligée — pour obtenir de bonnes mesures de la concentration ionique — de débarrasser les émulsions de globules expérimentées de leur teneur en acide carbonique et de les faire traverser ensuite, pendant les mesurages, d'un courant continu d'hydrogène (voir S.-P.-L. SÖRENSEN, *Études enzymatiques* II, 13); ce procédé a donné des déterminations promptes et sûres.

<sup>1</sup> Depuis, M. HASSELBALCH (7) a introduit dans sa méthode de mesurage une modification consistant dans le maintien en mouvement du vase électrolytique, ce qui marque sans doute un progrès dans le cas de liquides contenant de l'acide carbonique. Le mémoire où les résultats obtenus par cette méthode se trouvent exposés a été publié après que j'avais terminé mes recherches à ce sujet.

La préparation d'émulsions exemptes d'acide carbonique se faisait par l'addition à l'émulsion sanguine des quantités indiquées d'acide chlorhydrique, et par l'expulsion subséquente de l'acide carbonique à l'aide d'un courant d'air dépourvu d'acide carbonique. En ajoutant ensuite des doses différentes de Na OH on obtenait aisément des émulsions ayant les concentrations ioniques voulues.

L'acide carbonique ne semble pas exercer une action spécifique sur les globules rouges; il agit probablement sur les hématies comme le ferait n'importe quel acide (HAMBURGER (5)). Quant aux altérations éventuelles déterminées dans les globules rouges par l'addition de l'acide chlorhydrique et les additions suivantes de diverses quantités d'hydrolyte de sodium, la possibilité n'est pas exclue qu'elles puissent être même assez considérables. Quoi qu'il en soit, elles n'ont pas fait perdre aux globules leur spécificité en présence de l'épeiralysine. Dans les essais qui nous occupent, les globules rouges jouaient essentiellement le rôle d'un indicateur, et sous ce rapport les globules traités ne me semblent pas s'être distingués des globules non traités.

Voici d'ailleurs le dispositif des expériences:

Le sang défibriné, qu'on avait fait passer à travers un linge pour en séparer le caillot, était étendu d'une solution à 0,9 % de chlorure de sodium, et une quantité déterminée de H Cl (norm. au  $\frac{1}{10}$ ) était ajoutée; ensuite l'acide carbonique était expulsé moyennant le passage, par aspiration à travers le liquide, d'un courant rapide d'air atmosphérique exempt d'acide carbonique. L'air avait été débarrassé de son contenu d'acide carbonique en passant par 4 barboteurs renfermant une solution à 10 % d'hydrate de sodium, après quoi on l'avait lavé en lui faisant traverser deux barboteurs remplis d'eau distillée. L'appareil était disposé de manière à ce que l'air ayant passé par l'émulsion des globules pût être à volonté aspiré à travers un petit barboteur contenant

de l'eau de baryte ; ce dispositif avait pour but de permettre la constatation du moment où l'acide carbonique avait été entièrement expulsé. Le plus souvent, 2 litres environ d'émulsion sanguine, répartis sur 2 barboteurs, étaient traités simultanément et, en règle générale, l'air qui les avait traversés était absolument exempt d'acide carbonique après 1 à 2 heures. Les diverses concentrations en ions hydrogène étaient réalisées par l'addition à l'émulsion ainsi traitée des doses de Na OH inscrites sur les tableaux. La concentration ionique de ces différents mélanges devant être déterminée par voie électrométrique pour la température de 37°, le vase électrolytique, l'électrode au calomel et le liquide transmetteur étaient disposés dans une étuve à 37°.

Des séries spéciales d'expériences ont donné pour résultat que, abstraction faite des mélanges à l'oléate et au glycocholate sodiques, aucune des hémolysines mises en œuvre, aux concentrations ci-dessus indiquées, n'avait provoqué des modifications appréciables dans la concentration ionique des liqueurs en expérience: on a donc cru pouvoir exécuter les mesures électrométriques sur l'émulsion de globules rouges non additionnée d'hémolysine; ce qui a permis de réaliser sur une seule et même émulsion et au cours d'une même journée, plusieurs expériences avec une ou même avec plusieurs hémolysines. Dans les expériences effectuées avec l'oléate et le glycocholate sodiques, les mesurages électrométriques étaient exécutés sur des tubes dont l'émulsion avait été mélangée de l'une ou l'autre de ces deux hémolysines.

Des expériences analogues ont été effectuées en vue de reconnaître si la concentration en ions hydrogène était modifiée au cours de l'hémolyse. De ces expériences il résultait, sans exception aucune, que les résultats obtenus avant, pendant et après la production de l'hémo-

Expériences sur globules r. de lapin. Tp. = 37°.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm au  $\frac{1}{10}$  + 755 cm<sup>3</sup> d'une solution de NaCl à 0,9 % = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 26 févr. 1912			
				PH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,0002 d'épeira-lysine	÷ P'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	5,56	18	50	32
2	180	+0,5	+19,5	5,96	15	50	35
3	180	+1,0	+19	6,30	9	55	46
4	180	+1,5	+18,5	6,60	6	55	49
5	180	+2,0	+18	6,85	6	57	51
6	180	+2,5	+17,5	7,09	6	57	51
7	180	+3,0	+17	7,35	6	57	51
8	180	+3,5	+16,5	7,56	6	55	49
9	180	+4,0	+16	7,80	6	52	46
10	180	+4,5	+15,5	8,04	6	50	44
11	180	+5,0	+15	8,24	6	40	34
12	180	+6,0	+14	8,63	15	32	17

Essai du 26 févr. 1912							
Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	PH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,05 de vibri-lysine	÷ P'hémolyse spontanée
				1	180	+0	+20
2	180	+0,5	+19,5	5,96	15	60	45
3	180	+1,0	+19	6,30	9	50	41
4	180	+1,5	+18,5	6,60	6	50	44
5	180	+2,0	+18	6,85	6	50	44
6	180	+2,5	+17,5	7,09	6	48	42
7	180	+3,0	+17	7,35	6	45	39
8	180	+3,5	+16,5	7,56	6	43	37
9	130	+4,0	+16	7,80	6	40	34
10	180	+4,5	+15,5	8,04	6	35	29
11	180	+5,0	+15	8,24	6	32	26
12	180	+6,0	+14	8,63	15	36	21

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,90/0 en cm <sup>3</sup>	Essai du 5 nov. 1912					
				pH.	Hémo- lyse spon- tanée	0cm <sup>3</sup> ,04 de saponine à 1 0/0	÷ l'hémo- lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,04 de staphylo- lysine	÷ l'hémo- lyse spontanée
1	180	+ 0	+ 20	6,03	22	85	63	60	38
2	180	+ 0,5	+ 19,5	6,40	12	60	48	55	43
3	180	+ 1,0	+ 19	6,71	2	27	25	50	48
4	180	+ 1,5	+ 18,5	7,01	2	18	16	45	43
5	180	+ 2,0	+ 18	7,24	2	13	11	40	38
6	180	+ 3,0	+ 17	7,70	2	10	8	42	40
7	180	+ 3,5	+ 16,5	7,90	2			55	53
8	180	+ 4,0	+ 16	8,10	2	12	10	70	68
9	180	+ 4,5	+ 15,5	8,30	7			55	48
10	180	+ 5,0	+ 15	8,52	25	47	22	50	25

lyse totale étaient absolument identiques. Il faut donc admettre que les variations qui ont pu être amenées dans la concentration en ions hydrogène, par le processus hémolytique, étaient assez petites pour être pratiquement neutralisées par la présence des divers tampons.

Dans un certain nombre de tubes à essai on versait très exactement les quantités d'hémolysine enregistrées ; ensuite, chaque tube recevait 15 centimètres cubes de l'émulsion de globules rouges ; on agitait ; on plaçait les mélanges dans un bainmarie à 37° centigrades ou on les laissait pendant 2 heures, après quoi les mélanges étaient de nouveau agités et on les laissait reposer jusqu'au lendemain dans une glacière (à environ 2—3°).

Le lendemain, on déterminait, pour chaque mélange, la proportion d'hémoglobine qui s'y trouvait dissoute. Ce mesurage se faisait par voie colorimétrique au moyen d'une gamme colorée, minutieusement graduée selon le procédé adopté et décrit par MADSEN (8). Les valeurs ainsi obtenues indiquent le pourcentage d'hémoglobine contenu dans le liquide, l'hémolyse totale de l'émulsion ayant été évoluée à 100 pour 100.



Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9% en cm <sup>3</sup>	Essai du 15 nov. 1912					
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,008 de venin de cobra à 2%	÷ l'hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,003 de venin d'abeille	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,18	4,5	90	85,5	70	65,5
2	180	+0,5	+19,5	6,54	2	60	58	51	49
3	180	+1,0	+19	6,76	1	47	46	42	41
4	180	+1,5	+18,5	6,96	1	38	37	37	36
5	180	+2,0	+18	7,15	1	21	20	31	30
6	180	+2,5	+17,5	7,34	1	18	17	27	26
7	180	+3,0	+17	7,50	1	16	15	22	21
8	180	+3,5	+16,5	7,64	1	12	11	20	19
9	180	+4,0	+16	7,82	1	12	11	19	18
10	180	+4,5	+15,5	7,89	2	14	12	27	25
11	180	+5,0	+15	8,15	3,5	22	18,5	35	31,5
Essai du 13 nov. 1912									
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,33 de glycocholate de sodium à 5%	÷ l'hémolyse spontanée		
1	180	+0	+20	5,90	17	100			
2	180	+0,5	+19,5	6,16	13	100			
3	180	+1,0	+19	6,41	11	100			
4	180	+1,5	+18,5	6,60	11	100			
5	180	+2,0	+18	6,85	11	100			
6	180	+2,5	+17,5	7,24	11	60			49
7	180	+3,0	+17	7,40	11	40			29
8	180	+3,5	+16,5	7,58	11	30			19
9	130	+4,0	+16	7,74	11	30			19
10	180	+4,5	+15,5	7,89	27	65			38
11	180	+5,0	+15						
Essai du 16 nov. 1912									
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,14 de d'oléate de sodium à 5%	÷ l'hémolyse spontanée		
1	180	+0	+20	6,50	5	100			
2	180	+0,5	+19,5	6,66	2	100			
3	180	+1,0	+19	6,83	1	45			44
4	180	+1,5	+18,5	7,00	1	25			24
5	180	+2,0	+18	7,18	1	16			15
6	180	+2,5	+17,5	7,31	1	12			11
7	180	+3,0	+17	7,46	1	11			10
8	180	+3,5	+16,5	7,61	1	11			10
9	180	+4,0	+16	7,76	1	14			13
10	180	+4,5	+15,5	7,89	2	22			20
11	180	+5,0	+15	7,99	3,5	35			31,

Expériences sur globules r. de bœuf.

Tp. = 37°.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10‰ + 50 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9‰ = Mélange A.  
On en expulse l'acide carbonique.

Numero du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9‰ en cm <sup>3</sup>	Essai du 3 janv. 1913						Essai du 9 janv. 1913					
				pH	Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> de saponite à 1‰	÷ Hémolyse spontanée	pH	Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée		
														Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm d'apertur-lystine
1	180	+0	+20	6,00	2	2	0	60	58	5,92	2	90	88		
2	180	+0,5	+19,5	6,27	2	6	4	50	48	6,19	2	75	73		
3	180	+1,0	+19	6,51	2	12	10	42	40	6,44	2	70	68		
4	180	+1,5	+18,5	6,74	2	26	24	36	34	6,69	2	60	58		
5	180	+2,0	+18	6,96	2	42	40	27	25	6,90	2	55	53		
6	180	+2,5	+17,5	7,15	2	53	51	25	23	7,12	2	50	48		
7	180	+3,0	+17	7,32	2	60	58	21	19	7,35	2	40	38		
8	180	+3,5	+16,5	7,54	2	60	58	20	18	7,49	2	35	33		
9	180	+4,0	+16	7,77	2	50	48	20	18	7,76	2	21	19		
10	180	+4,5	+15,5	7,96	2	38	36	20	18	8,02	2	14	12		
11	180	+5,0	+15	8,17	2	20	18	22	20	8,23	2	25	23		
12	180	+6,0	+14	8,61	20	8	18	50	30	8,72	14	90	76		

Essai du 14 janv. 1913						Essai du 10 janv. 1913					
pH	Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm de saponite d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée	pH	Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée	Osm <sup>3</sup> -osm de saponite d'apertur-lystine	÷ Hémolyse spontanée
6,12	0	0	0	6	6	6,06	10	100	100	100	100
6,38	0	0	0	11	11	6,25	2	100	100	100	100
6,59	0	2,5	0	23	23	6,43	2	100	100	100	100
6,81	0	10	0	27	27	6,66	2	100	100	100	100
7,06	0	65	0	35	35	6,88	2	100	100	100	100
7,27	0	75	0	35	35	7,00	2	80	80	80	78
7,50	0	95	0	38	38	7,24	2	65	65	65	63
7,68	0	100	0	38	38	7,41	2	53	53	53	53
7,97	0	100	0	35	35	7,61	2	50	50	50	48
8,22	0	100	0	32	32	7,82	2	27	27	27	25
8,44	2	100	2	25	23	7,99	2	25	25	25	25
8,98	65	100	100	80	15	8,39	14	100	100	100	23

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 13 janv. 1913			
				PH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,23 d'oléate de sodium à 1 %	÷ l'hémo- lyse spontanée
1	180	+0	+20	6,15	8	100	
2	180	+0,5	+19,5	6,37	4	100	
3	180	+1,0	+19	6,52	2	100	
4	180	+1,5	+18,5	6,72	2	100	
5	180	+2,0	+18	6,91	2	100	
6	180	+2,5	+17,5	7,14	2	30	28
7	180	+3,0	+17	7,30	2	11	9
8	180	+3,5	+16,5	7,51	2	7	5
9	180	+4,0	+16	7,67	2	6	4
10	180	+4,5	+15,5	7,88	2	6	4
11	180	+5,0	+15	8,05	2	10	8
12	180	+6,0	+14	8,47	14	30	16

Parallèlement, on organisait des séries de tubes témoins contenant chacun 15<sup>cc</sup> d'émulsion non additionnée d'hémolyse, et qui étaient d'ailleurs soumis au même traitement que les tubes en expérience. On entendait vérifier par là si, oui ou non, il se produisait, surtout vers les extrémités des séries, une hémolyse acide ou alcaline (engendrée par les concentrations ioniques très fortes ou très faibles).

Dans les cas où une telle hémolyse spontanée était constatée, on en tenait compte en déduisant sa valeur de celle de l'hémolyse relevée pour le tube en expérience correspondant, regardant ainsi la différence des deux hémolyse comme étant celle provoquée par l'hémolysine ajoutée; aux cas où l'hémolyse produit était totale (de 100 %), la soustraction n'a pas été effectuée, les chiffres ainsi obtenus étant nécessairement sujets à caution. Reste à savoir s'il est légitime de déduire de la sorte l'hémolyse spontanée de l'hémolyse partielle accusée par les divers tubes en expérience. ARRHENIUS (2) a montré que l'action combinée de deux hémolysines, n'exerçant pas d'action chimique réciproque

## Expériences sur globules r. de mouton.

Tp. = 37°.

1000cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + la quantité indiquée, pour chaque expérience, de HCl, norm. au 1/10, + NaCl à 0,9 % jusqu'à 1800cm<sup>3</sup> = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9%, en cm <sup>3</sup>	Essai du 19 nov. 1912. 45 cm <sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10			
				p <sub>H</sub>	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,08 de saponine à 1 %	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,22	0	32	32
2	180	+0,5	+19,5	6,48	0	28	28
3	180	+1,0	+19	6,76	0	22	22
4	180	+1,5	+18,5	6,95	0	18	18
5	180	+2,0	+18	7,22	0	13	13
6	180	+2,5	+17,5	7,44	0	12	12
7	180	+3,0	+17	7,65	0	12	12
8	180	+3,5	+16,5	7,94	0	16	16
9	180	+4,0	+16	8,10	1	25	24
10	180	+4,5	+15,5	8,32	3	46	43
11	180	+5,0	+15	8,50	7	90	83

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9%, en cm <sup>3</sup>	Essai du 20 nov. 1912. 50cm <sup>3</sup> de HCl norm. in 1/10					
				p <sub>H</sub>	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,12 de vibriolysine	÷ l'hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,03 de staphylo-lysine	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	5,89	0	100		0	0
2	180	+0,5	+19,5	6,32	0	100	100?	10	10
3	180	+1,0	+19	6,69	0	97	97	60	60
4	180	+1,5	+18,5	7,02	0	82	82	65	65
5	180	+2,0	+18	7,32	0	50	50	63	63
6	180	+2,5	+17,5	7,56	0	27	27	58	58
7	180	+3,0	+17	7,92	0	25	25	40	40
8	180	+3,5	+16,5	8,18	0	30	30	37	37
9	180	+4,0	+16	8,43	0	23	23	43	43
10	180	+4,5	+15,5	8,68	4	11	7	60	56
11	180	+5,5	+14,5	9,18	16	11		80	64

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 21 nov. 1912. 53 cm <sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10					
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,002 de venin d'abeille	÷ Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,01 de venin de cobra à 2 %	÷ Hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	5,72	18	20	2	20	2
2	180	+0,5	+19,5	6,05	16	35	19	25	9
3	180	+1,0	+19	6,36	16	40	24	30	14
4	180	+1,5	+18,5	6,62	16	65	49	42	26
5	180	+2,0	+18	6,88	16	83	67	53	37
6	180	+2,5	+17,5	7,08	16	95	79	60	44
7	180	+3,0	+17	7,38	16	95	79	75	59
8	180	+3,5	+16,5	7,59	16	95	79	82	66
9	180	+4,0	+16	7,82	16	90	74	95	79
10	180	+4,5	+15,5	8,08	16	75	59	95	79
11	180	+5,0	+15	8,26	17	60	43	90	73
12	180	+6,0	+14	8,70	20	37	17	45	25

				Essai du 20 févr. 1912. 50 cm <sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10			
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,3 de glycocholate de sodium à 5 %	÷ Phémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,14	30	100	
2	180	+0,5	+19,5	6,34	30	100	
3	180	+1,0	+19	6,60	30	87	57
4	180	+1,5	+18,5	6,80	30	60	30
5	180	+2,0	+18	7,02	30	50	20
6	180	+2,5	+17,5	7,23	30	35	5
7	180	+3,0	+17	7,45	30	33	3
8	180	+3,5	+16,5	7,68	30	33	3
9	180	+4,0	+16	7,86	30	33	3
10	180	+4,5	+15,5	8,10	30	35	5
11	180	+5,0	+15	8,32	32	37	5
12	180	+6,0	+14	8,72	40	40	0

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 29 nov. 1912. 48 cm <sup>3</sup> de HCl à norm. au $\frac{1}{10}$			
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> , <sup>16</sup> <i>d'oléate</i> <i>de sodium</i> à 1 %	÷ l'hémo- lyse spontanée
1	180	+0	+20	6,41	22	100	
2	180	+0,5	+19,5	6,60	22	100	
3	180	+1,0	+19	6,88	22	100	
4	180	+1,5	+18,5	7,18	22	40	18
5	180	+2,0	+18	7,28	22	30	8
6	180	+2,5	+17,5	7,55	22	25	3
7	180	+3,0	+17	7,73	22	24	2
8	180	+3,5	+16,5	7,91	22	24	2
9	180	+4,0	+16	8,12	22	25	3
10	180	+4,5	+15,5	8,32	22	27	5
11	180	+5,0	+15	8,51	25	40	15
12	180	+6,0	+14	8,88	40	100	

(destruction, etc.), dépasse sensiblement la somme de leurs actions respectives. D'autre part j'ai observé, au cours de cette étude, un phénomène d'ordre contraire: plus d'une fois il m'est arrivé de constater, dans les plus alcalins des mélanges traités, une hémolyse plus faible que dans les tubes témoins (voir le tableaux), et nous sommes donc en présence de cas où l'action combinée de deux hémolysines est moindre que la somme des actions particulières (voir les tableaux). Remarquons en passant ce fait d'observation empirique qu'avec les concentrations ioniques et les hémolysines considérées il ne saurait guère être question d'une décomposition de l'hémolysine déterminée par les diverses concentrations en ions hydrogène ou hydroxyle — ou alors une telle décomposition d'hémolysine ne se produirait que dans une mesure très restreinte, et en supposant qu'elle se produisît elle n'expliquerait pas une hémolyse plus faible que celle du tube témoin. Tout en admettant la possibilité de perturbations de ce genre dans l'ordre de recherches qui nous occupe, je suis d'avis qu'elles n'ont pas joué un rôle

Expériences sur globules r. de cheval. Tp. = 37°.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 50 cm<sup>3</sup> de HCl à  $\frac{n}{10}$  + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 % = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH à $\frac{n}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 11 déc. 1912			
				PH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> , <sup>11</sup> de vibriolysine	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,26	2	90	88
2	180	+0,5	+19,5	6,54	2	85	83
3	180	+1,0	+19	6,82	2	80	78
4	180	+1,5	+18,5	7,10	2	75	73
5	180	+2,0	+18	7,28	2	65	63
6	180	+2,5	+17,5	7,58	2	55	53
7	180	+3,0	+17	7,74	2	50	48
8	180	+3,5	+16,5	7,86	2	36	34
9	180	+4,0	+16	8,12	2	34	32
10	180	+4,5	+15,5	8,36	2	33	31
11	180	+5,0	+15	8,65	4	38	34
12	180	+6,0	+14	9,05	55	33	

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH à $\frac{n}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Essai du 18 déc. 1912			
				PH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> , <sup>1</sup> de saponine à 1 %	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,20	0	60	60
2	180	+0,5	+19,5	6,52	0	45	45
3	180	+1,0	+19	6,74	0	45	45
4	180	+1,5	+18,5	6,96	0	45	45
5	180	+2,0	+18	7,20	0	45	45
6	180	+2,5	+17,5	7,42	0	45	45
7	180	+3,0	+17	7,64	0	45	45
8	180	+3,5	+16,5	7,88	0	45	45
9	180	+4,0	+16	8,04	0	45	45
10	180	+4,5	+15,5	8,25	0	45	45
11	180	+5,0	+15	8,48	0	45	45
12	180	+6,0	+14	8,85	17	70	53

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH, norm. au $\frac{1}{10}$ , en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9%, en cm <sup>3</sup>	Essai du 19 dec. 1912					
				pH	Hémo- lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,0002 de <i>venin</i> d' <i>abeille</i>	÷ P'hémo- lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,0008 de <i>venin</i> de <i>cobra</i> à 2%	÷ P'hémo- lyse spontanée
1	180	+0	+20	6,28	2	12	10	22	20
2	180	+0,5	+19,5	6,51	2	10	8	10	8
3	180	+1,0	+19	6,72	2	10	8	20	18
4	180	+1,5	+18,5	6,94	2	11	9	30	28
5	180	+2,0	+18	7,12	2	16	14	35	33
6	180	+2,5	+17,5	7,28	2	30	28	45	43
7	180	+3,0	+17	7,50	2	60	58	52	50
8	180	+3,5	+16,5	7,68	2	65	63	60	58
9	180	+4,0	+16	7,90	2	70	68	65	63
10	180	+4,5	+15,5	8,12	3	60	57	60	57
11	180	+5,0	+15	8,31	8	100		36	28
12	180	+6,0	+14	8,74	50	100		100	
Essai du 3 dec. 1912									
				pH	Hémo- lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,38 de <i>glycocholate</i> de <i>sodium</i> à 5%	÷ P'hémo- lyse spontanée		
1	180	+0	+20	6,38	2	100			
2	180	+0,5	+19,5	6,58	2	100			
3	180	+1,0	+19	6,84	2	100			
4	180	+1,5	+18,5	7,08	2	70		68	
5	180	+2,0	+18	7,27	2	48		46	
6	130	+2,5	+17,5	7,46	2	21		19	
7	180	+3,0	+17	7,71	2	18		16	
8	180	+3,5	+16,5	7,90	2	18		16	
9	180	+4,0	+16	8,09	2	16		14	
10	180	+4,5	+15,5	8,26	2	12		10	
11	180	+5,0	+15	8,44	5	10		5	
12	180	+6,0	+14	8,86	20	22		2	



Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9% en cm <sup>3</sup>	Essai du 11 févr. 1912			
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,18 d'oléate de sodium à 1%	÷ Phémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,61	2	100	
2	180	+0,5	+19,5	6,79	2	100	
3	181	+1,0	+19	6,98	2	100	
4	180	+1,5	+18,5	7,21	2	60	58
5	180	+2,0	+18	7,40	2	33	31
6	180	+2,5	+17,5	7,58	2	22	20
7	180	+3,0	+17	7,77	2	18	16
8	180	+3,5	+16,5	7,93	2	18	16
9	180	+4,0	+16	8,13	2,5	23	21,5
10	180	+4,5	+15,5	8,31	4	32	28
11	180	+5,0	+15	8,49	16	55	39
12	180	+6,0	+14	8,81	100	100	

important dans les expériences ici considérées, d'autant que l'hémolyse spontanée, due aux acides et aux alcalis, ne s'est produite dans une mesure quelque peu considérable que vers les extrémités de notre champ d'expérience. Mais, évidemment, on fera bien de tenir compte de cette possibilité en appréciant les résultats des essais et de ne les considérer comme vérifiés et valables que dans le domaine où les concentrations en ions hydrogène et hydroxyle ne suffisent pas à engendrer d'hémolyse. Aussi est-ce seulement à l'intérieur de ce domaine que les courbes des schémas graphiques ci-dessous ont été représentées par des lignes pleines.

Les circonstances particulières des essais se trouvent indiquées dans les tableaux suivants. D'ailleurs, les expériences ici communiquées ne représentent qu'une partie des matériaux recueillis, chaque hémolysine ayant fait l'objet de plusieurs (6—11) expériences non enregistrées qui donnaient toujours des résultats concordants, ce qui revient à dire qu'elles correspondaient toutes à un type de courbes iden-

tique au type inscrit, tout en ayant du reste — comme cela ressort de ce qui va suivre — des optima et des minima dépendant de divers facteurs et notamment de la concentration d'hémolysine.

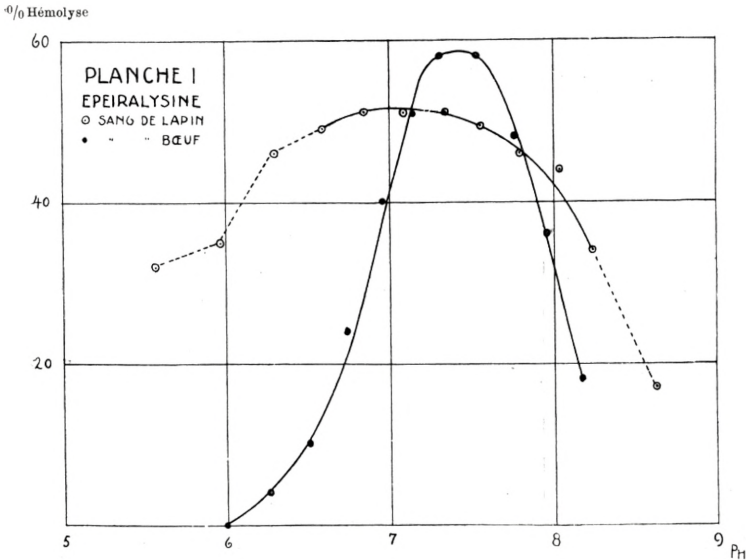
Il résulte des tableaux qu'au voisinage du point neutre l'hémolyse était le plus souvent assez faible (de 0—2 %); cependant, dans un petit nombre de cas, elle a été plus considérable (11 % environ) et dans deux cas elle s'est élevée jusqu'à 22 et à 30 %, respectivement. Si cette hémolyse spontanée n'a pas toujours pu être évitée, il faut probablement l'attribuer en première ligne aux variations qu'offrait la résistance aux acides des globules en expérience.

A première vue, les conclusions tirées d'expériences entachées d'une hémolyse spontanée aussi considérable pourraient paraître suspectes; mais il ne faut pas oublier que la dite hémolyse est due au traitement initial par l'acide et à l'expulsion d'acide carbonique qui le suivit; depuis, la concentration ionique des mélanges a été atténuée par l'addition de quantités variées d'hydroxyde de sodium et dès lors on a affaire à des globules rouges délayés dans un liquide contenant, en dehors de sérum normal et de chlorure de sodium, une faible proportion d'hémoglobine dissoute. La présence, dans la solution, de cette hémoglobine entrave les recherches en rétrécissant le domaine d'hémolyse, mais il ne semble pas que la forme de la courbe s'en trouve aucunement modifiée.

Les résultats consignés dans les tableaux ci-dessus se trouvent représentés graphiquement par les planches I—VIII, où les exposants des grandeurs de la concentration en ions hydrogène ou hydroxyle ( $p_{H'}$ ) sont portés en abscisses tandis que les valeurs proportionnelles de l'hémolyse en ont fourni les ordonnées. Pour faciliter les comparaisons, les courbes

des diverses hémolysines ont été réparties sur les planches d'après l'espèce d'hémolysine mise en œuvre.

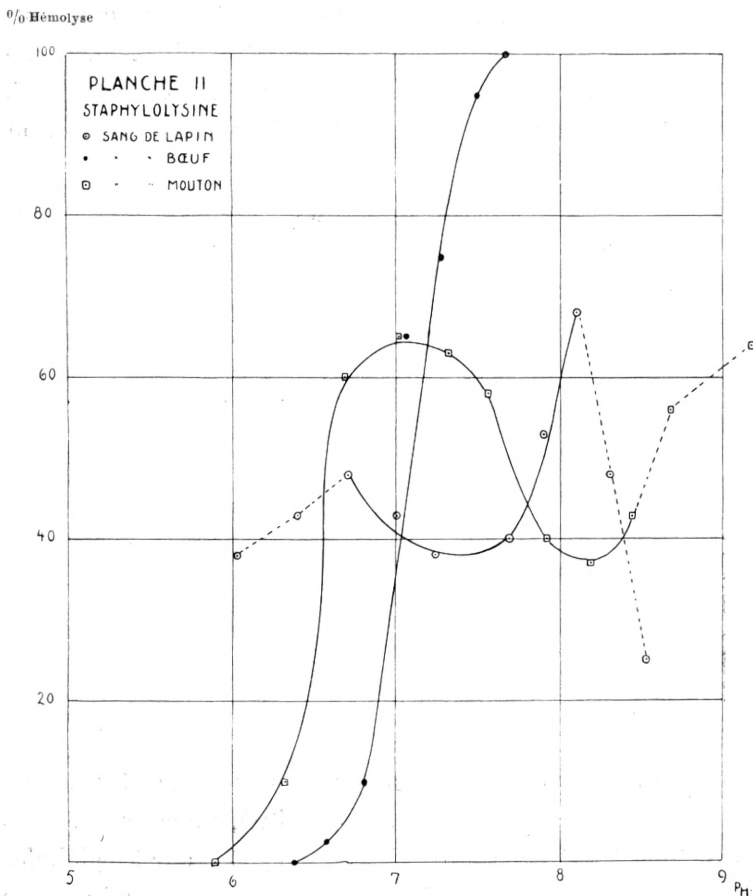
La planche I représente les valeurs relevées pour l'épeiralysine. L'action de cette hémolysine sur les globules rouges de cheval et de mouton n'a pas été représentée, ces deux espèces de sang y étant absolument réfractaires. Des expériences faites sur les globules rouges de lapin et de bœuf, il ressort avec une grande netteté qu'il existe pour l'action



hémolytique un optimum prononcé de la concentration en ions hydrogène lequel optimum est situé, pour les globules de lapin, au voisinage du point neutre, et, pour les globules de bœuf, un peu plus loin dans la direction alcaline, vers  $p_H = 7,40$ .

La staphylolysine (planche II) n'exerce d'action hémolytique sur les globules rouges de cheval. Pour les trois autres espèces de sang, les courbes ont une allure assez variée. L'essai effectué avec les globules rouges de bœuf a donné ce résultat, assez surprenant, que l'hémolyse y est

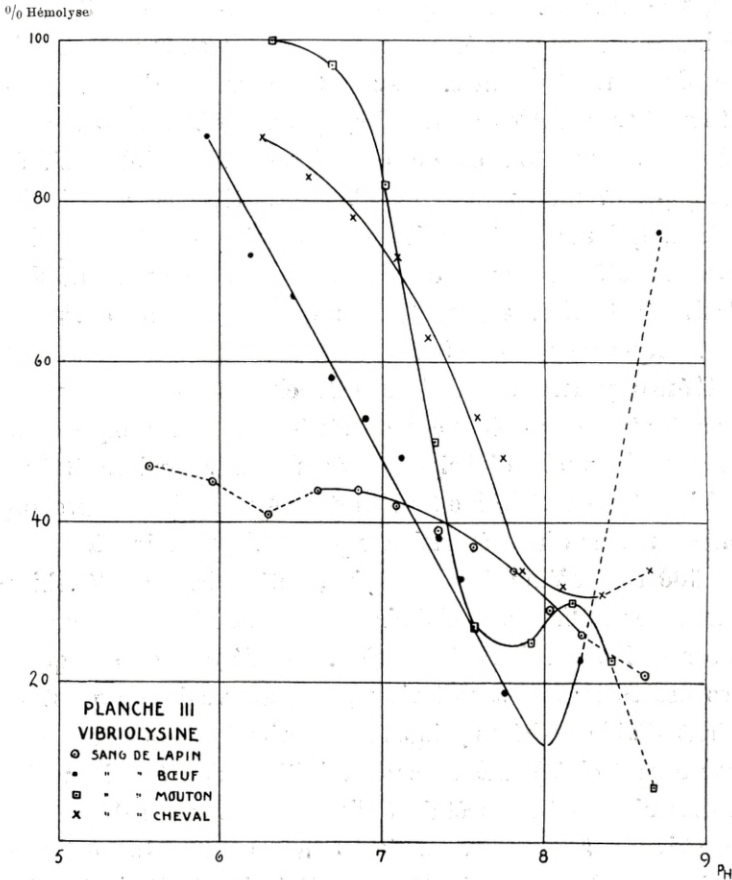
nulle à  $p_H = 6,4$  et totale à  $p_H = 7,05$ . La montée très rapide de cette courbe indique que dans le mélange en question la concentration ionique joue un rôle très important. Selon toute probabilité, les essais relatifs à l'action de la



staphylolysin sur les globules rouges de bœuf demanderont, pour être réalisés sur une large échelle et avec la précision requise, l'addition à la liqueur en expérience d'un tampon assez actif.

Les expériences sur les globules de lapin ont donné un minimum bien marqué à  $p_H = 7,4$  environ.

Quant aux globules rouges de mouton, l'essai y a pris un cours analogue, sauf que la courbe se trouve un peu plus avancée du côté alcalin. Au surplus, cette courbe présente un optimum d'action voisin de  $p_H = 7,0$ , l'action s'affaiblis-



sant assez brusquement du côté acide. A  $p_H = 6,4$ , l'hémolyse était nulle.

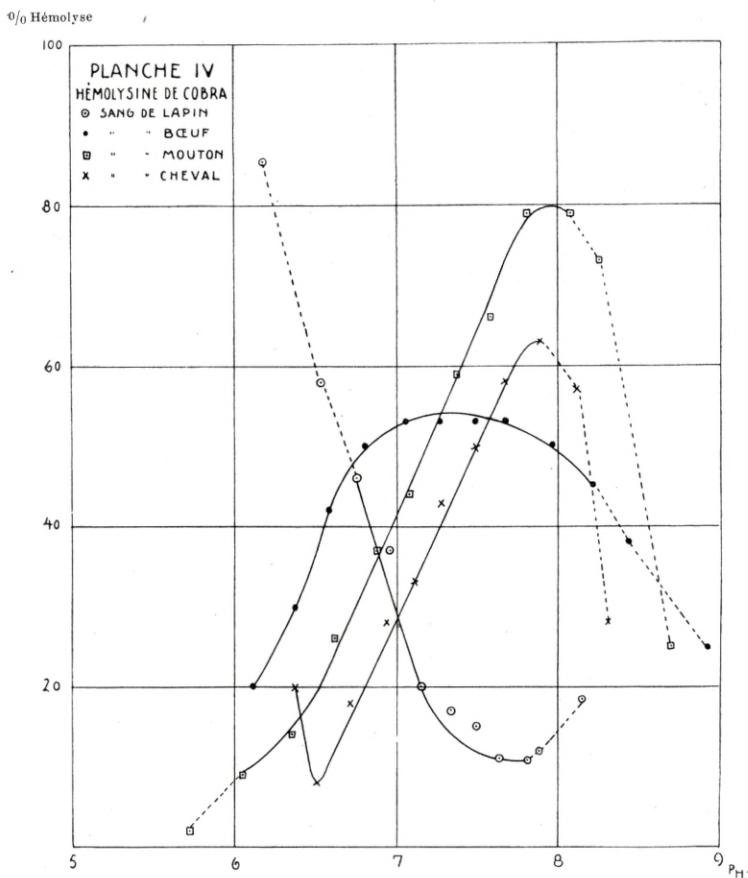
Les expériences à la vibriolysine (planche III) ont été réalisées sur les quatre espèces de sang. Ici encore, l'allure des courbes varie un peu. En présence des globules rouges de lapin, la vibriolysine a donné un résultat qui

rappelle beaucoup celui obtenu avec l'epiralysine agissant sur les mêmes globules. Ici comme là, l'optimum semblait tomber dans le voisinage du point neutre, avec pourtant un petit déplacement vers le côté acide. Avec les globules rouges de bœuf, la vibriolysine donnait, vers  $p_{H^+} = 8,00$ , un minimum très prononcé, à partir duquel l'action augmentait vite de part et d'autre. Les deux courbes, d'allures parfaitement semblables entre elles, qu'on a obtenues avec les globules de mouton et de cheval, ont des minima situés vers  $p_{H^+} = 7,8$  et vers  $p_{H^+} = 8,3$  respectivement; mais ici l'action, qui augmente rapidement du côté acide, est moins forte du côté alcalin; la courbe du sang de mouton décline relativement vite, accusant, à ce qu'il paraît, un optimum peu marqué vers  $p_{H^+} = 8,2$ .

Hémolysine de cobra (planche IV). — Remarque. Dans toutes les expériences effectuées avec l'hémolysine de cobra et le venin d'abeille, les émulsions sanguines étaient additionnées de lécithine (préparation Merck) dans la proportion de 2 cm<sup>3</sup> d'une émulsion aqueuse de lécithine, à 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, par 100 cm<sup>3</sup> d'émulsion sanguine, cette dose de lécithine étant assez faible pour n'avoir pas de retentissement sur la concentration en ions hydrogène. A l'égard de quelques-unes des espèces de sang traitées, les deux venins en question étaient d'ailleurs hémolytiquement actifs (quoique dans une mesure restreinte) même sans addition de lécithine; les courbes ainsi obtenues étaient d'allure essentiellement identique à celle que j'obtenais avec les mêmes venins après avoir ajouté de la lécithine à l'émulsion des globules rouges.

L'expérience faite avec du sang de lapin donnait un minimum d'action vers  $p_{H^+} = 7,7$ , tandis que pour le sang de bœuf la zone optimum se trouvait dans le voisinage de  $p_{H^+} = 7,4$ . Les sangs de mouton et de cheval offraient une certaine analogie, l'un et l'autre ayant, à ce qu'il semble,

un optimum marqué vers  $p_H = 7,9$ ; mais, du côté acide, l'action allait diminuant pour les globules de mouton, alors que la courbe des globules de cheval présentait une nouvelle montée,

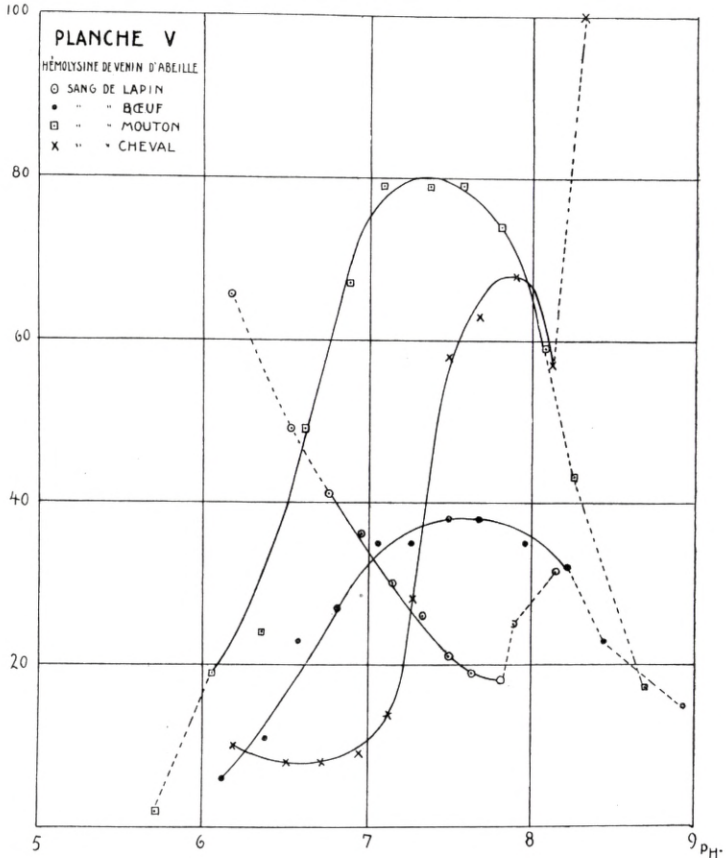


de sorte que, pour cette espèce de sang, le minimum se trouvait placé vers  $p_H = 6,5$ .

L'hémolysine du venin d'abeille (planche V) donne lieu à une réaction d'allure similaire, du moins dans les grandes lignes, ce qui s'explique par la parenté étroite de ces deux hémolysines. Il semble pourtant qu'avec le venin d'abeille le point optimum des globules rouges de mouton

se place un peu plus loin dans la direction acide vers  $p_{H^+} = 7,4$ . Celui des globules rouges de cheval est le même qu'avec l'hémolyse de cobra (à  $p_{H^+} = 7,9$ ) et le minimum se trouve à  $p_{H^+} = 6,6$ .

$\%_0$  Hémolyse

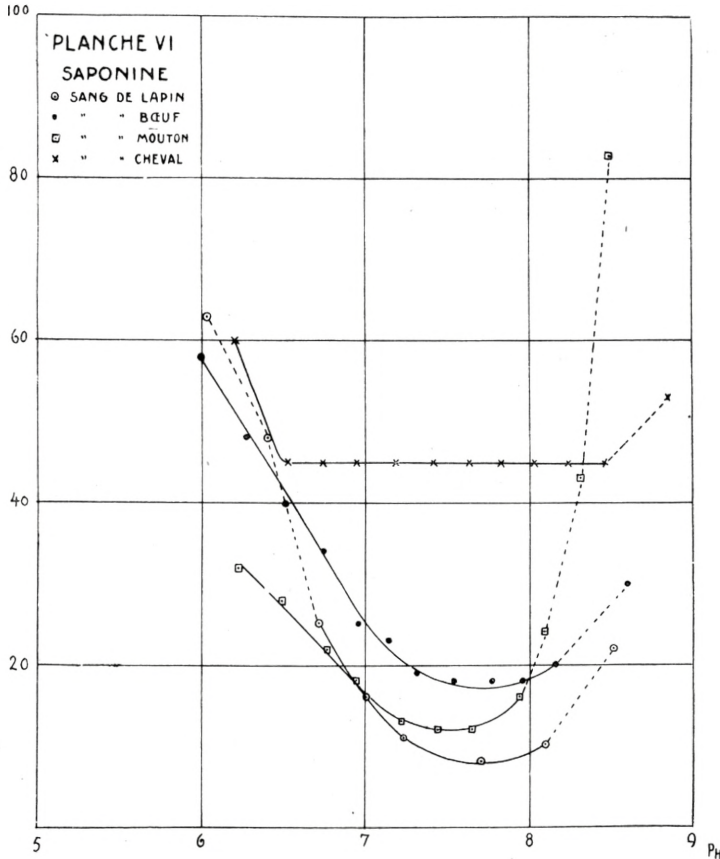


Saponine (planche VI). — Les expériences sur globules rouges de lapin, de bœuf et de mouton ont donné des courbes uniformes ayant leurs minima respectifs vers  $p_{H^+} = 7,7$ ,  $p_{H^+} = 7,7$  et  $p_{H^+} = 7,5$ . L'expérience sur les globules rouges de cheval fournissait une courbe assez curieuse, l'action restant la même depuis  $p_{H^+} = 6,5$  jusqu'à  $p_{H^+} = 8,5$ ; c'est le seul des mélanges hémolytiques considérés



où la concentration en ions hydrogène soit resté apparemment à peu près étrangère à l'action hémolytique.

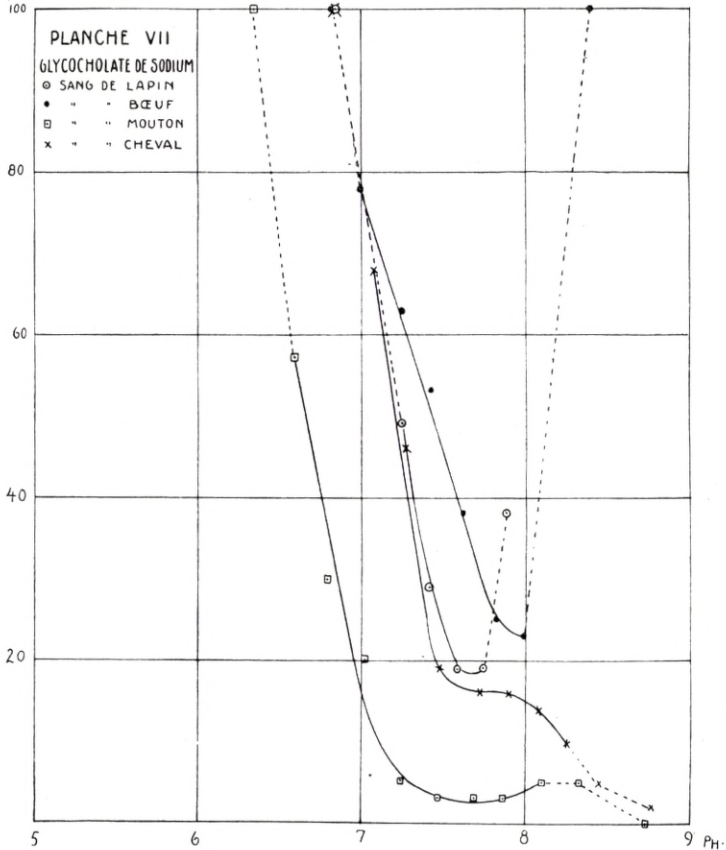
<sup>0</sup>/<sub>10</sub> Hémolyse



Le glycocholate de sodium (planche VII) donnait des minima situés, pour les globules rouges de lapin, de mouton et de cheval, vers  $p_H = 7,7$  et, pour les globules de bœuf, vers  $p_H = 8,8$ . A partir du minimum, toutes ces espèces de sang accusaient, du côté acide, une action augmentant dans de fortes proportions; du côté alcalin, elles se comportaient un peu différemment, l'action allant appa-

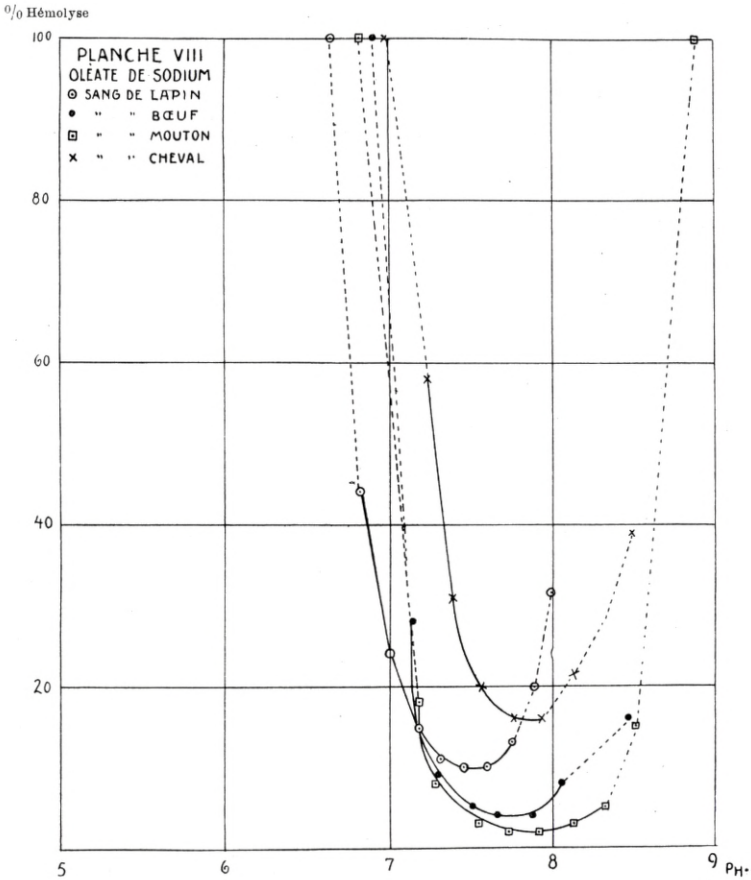
remment en augmentant dans les émulsions sanguines de lapin et de bœuf, tandis que dans celles de mouton et de cheval elle semblait s'affaiblir de nouveau après une petite recrudescence d'énergie.

0/0 Hémolyse



Le type des courbes obtenues avec l'oléate de sodium (planche VIII) est le même pour toutes les espèces de sang: il existe un minimum avec action croissante de part et d'autre. Ce minimum se trouve, dans les émulsions de bœuf, de mouton, de cheval, vers  $p_H = 7,7 - 7,9$ , et, dans les émulsions de lapin, vers  $p_H = 7,5$ .

MM. FRIEDEMANN et SACHS (4) observent que le Na OH entrave l'hémolyse provoquée par l'oléate de sodium, et qu'au contraire une addition acide n'avait jamais cet effet. Cette observation se trouve en parfait accord avec les ré-



sultats ci-dessus indiqués, — à la condition toutefois qu'il s'agisse de quantités extrêmement faibles d'acide ou d'alcali.

A jeter les yeux sur ces courbes, on reçoit une forte impression du rôle important que joue la concentration ionique des mélanges dans les processus hémolytiques. Dans la

plupart des cas, ce rôle est à ce point considérable qu'on se demande comment il a été possible de mener à bien des recherches hémolytiques quantitatives, tant soit peu étendues, sans tenir compte de la concentration en ions hydrogène, et si, de fait, la chose a été possible, cela s'explique probablement, comme nous l'avons indiqué plus haut, par la présence, dans la grande majorité des cas, de « tampons » appropriés. J'ajouterai qu'au cours des essais, assez nombreux, dont je donne ici les résultats, je n'ai observé que très rarement quelque « irrégularité » dans les séries d'expériences, et j'en conclus que dans les recherches sur l'hémolyse, de même que dans les études enzymatiques, il faut tenir compte du plus ou moins de pouvoir « tampon » des mélanges en expérience; — au cas où ce pouvoir se montrerait insuffisant, on devra y remédier à l'aide d'additions appropriées.

Un autre fait qui ressort des courbes ci-dessus, c'est que l'action de la concentration en ions hydrogène n'est pas la même pour les diverses hémolysines et les différentes espèces de sang; elle varie pas mal suivant la nature des mélanges. A priori, on s'attendrait à trouver aux environs du point neutre l'optimum éventuel de la concentration ionique et à voir la courbe prendre dès lors l'allure qui a été constatée pour celle de l'épeiralysine (planche I); cette allure on la supposerait identique pour les différentes hémolysines et les différentes espèces de sang. L'expérience a montré qu'il n'en est rien.

En examinant de près les courbes, on ne tardera pas à s'apercevoir qu'elles se laissent presque toutes rapporter à deux types principaux, dont l'un, le type A, présente un optimum d'action avec diminution d'action des deux côtés, et l'autre, le type B, offre au contraire un minimum d'action avec augmentation d'action de part et d'autre. Dans les

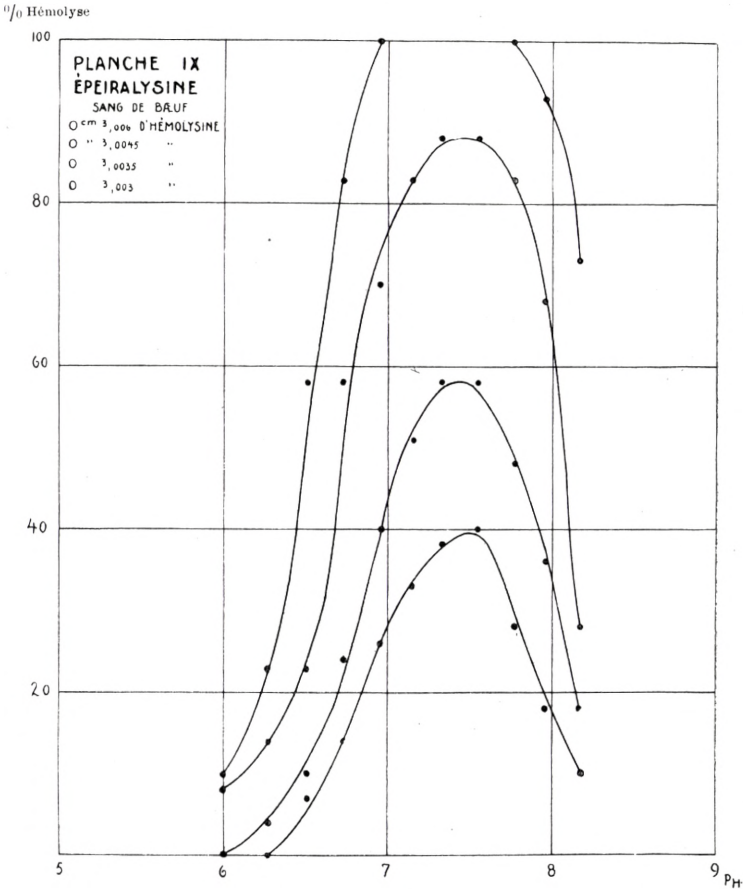
mélanges: staphylolysine — sang de mouton, hémolysine de venin d'abeille — sang de cheval, hémolysine de cobra — sang de cheval, les deux types se trouvent apparemment réunis, leurs courbes ayant non seulement un optimum mais aussi un minimum d'action.

Pour s'expliquer les allures de ces courbes, on devra se rappeler que nous sommes ici en présence d'une influence combinée de deux agents hémolyseurs différents, qui sont: 1° l'hémolysine ajoutée, et 2° l'une des diverses concentrations en ions hydrogène ou hydroxyle. Il est vrai que les ions hydrogène et hydroxyle représentent — du moins, dans une zone assez large — des proportions trop faibles pour pouvoir engendrer, à eux seuls, l'hémolyse, mais il se pourrait qu'associés à une autre hémolysine ils fussent susceptibles d'exercer une action appréciable, surtout si cette autre hémolysine était d'une concentration assez forte pour provoquer à elle seule l'hémolyse. Rappelons à ce sujet les recherches relatées par SACHS (12), où il est montré que les globules rouges de chèvre, digérées avec une dose non dissolvante d'oléate de sodium, entrent en hémolyse, si on leur ajoute une dose d'hydrate sodique trop faible pour engendrer l'hémolyse à elle seule.

Dans le cas du type A, nous avons donc affaire à des mélanges où l'augmentation des concentrations en ions hydrogène, ou hydroxyle, produisait un affaiblissement de l'action de l'hémolysine ajoutée; dans le cas du type B, c'est le contraire qui avait lieu.

Nous avons parlé plus haut (p. 16) des recherches entreprises par ARRHENIUS sur l'action simultanée de deux hémolysines — recherches ayant donné pour résultat que l'action combinée dépassait de beaucoup comme effet, la somme des actions particulières. Les substances mises en œuvre étaient la saponine + Na OH ou NH<sub>3</sub> en présence de globules de cheval. Or il résulte des expériences ci-dessus

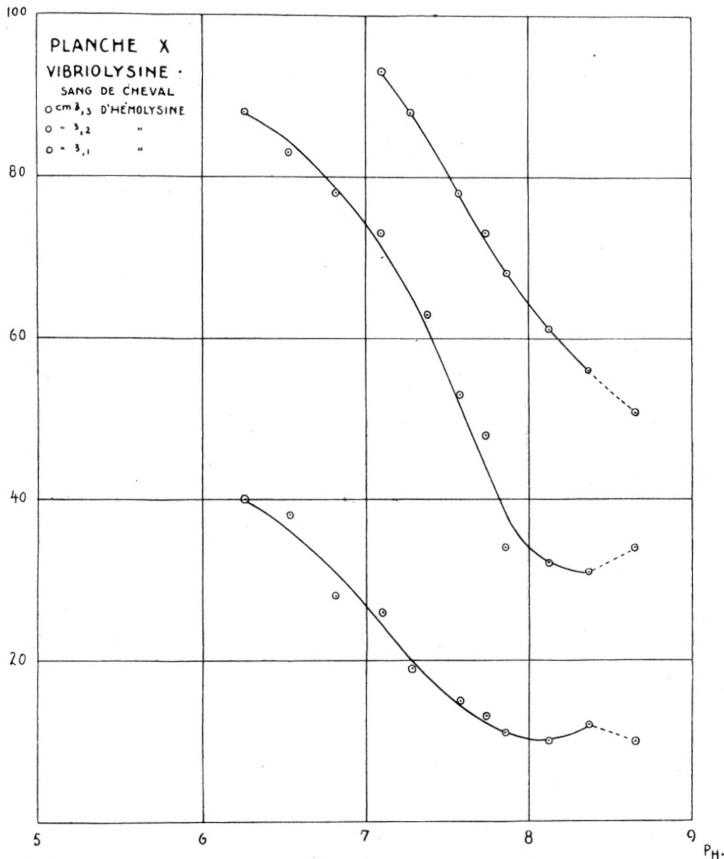
rapportées que la courbe de la saponine est du type B, où l'intensité d'action croît avec la concentration en ions hydroxyle. Notre courbe saponine — sang de cheval montre qu'à la différence de tous les autres mélanges en expérience,



celui-ci présente une zone assez large où la concentration en ions hydrogène et hydroxyle n'exerce apparemment aucune influence, mais qu'en dehors de ce champ l'action augmente des deux côtés; les fortes doses d'alcalis utilisées par ARRHENIUS, et qui provoquaient elles seules une légère hémolyse, placent ses expériences en dehors de la zone d'inactivité.

Quant à l'observation de MM. FRIEDEMANN et SACHS ((4) voir plus haut), d'après laquelle les petites quantités de soude enrayeraient l'hémolyse engendrée par l'oléate sodique tandis qu'une telle action d'arrêt ne se produirait pas après

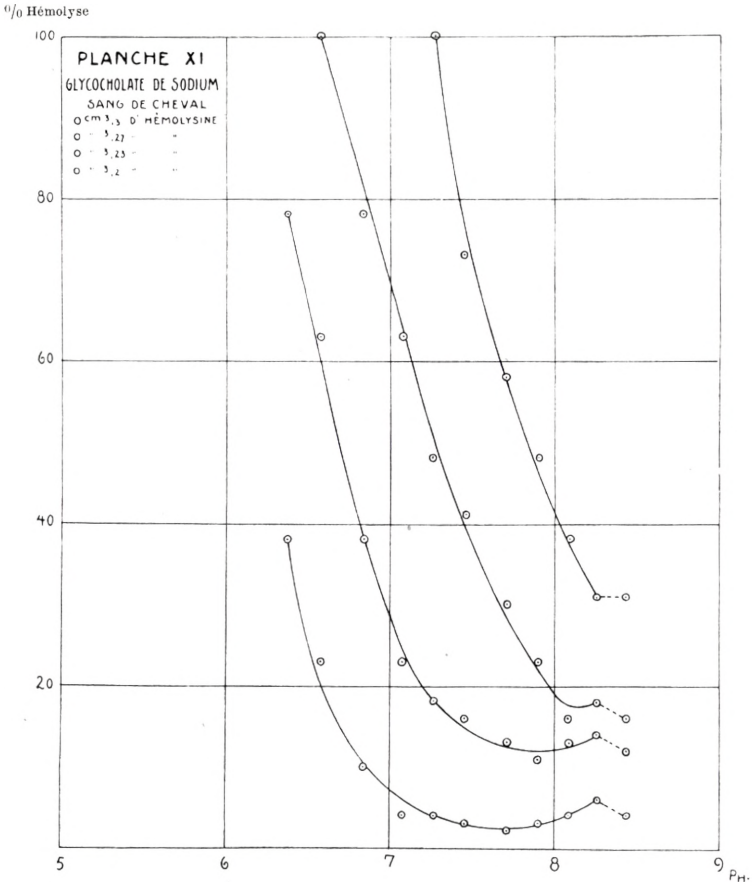
0/0 Hémolyse



l'addition d'acide, elle concorde avec l'allure des courbes de l'oléate sodique ci-dessus inscrites.

Que, dans les expériences qui nous occupent, la marche du processus hémolytique ne soit pas toujours déterminée uniquement par l'hémolysine employée et la concentration ionique, mais aussi par l'espèce de sang traitée, on le voit

à la planche de courbes IV où l'action de l'hémolysine de cobra sur les globules de bœuf a un optimum situé vers  $p_H = 7,4$ , alors que l'action du même venin sur les hématies de lapin présente un minimum situé vers  $p_H = 7,7$ . Il semble



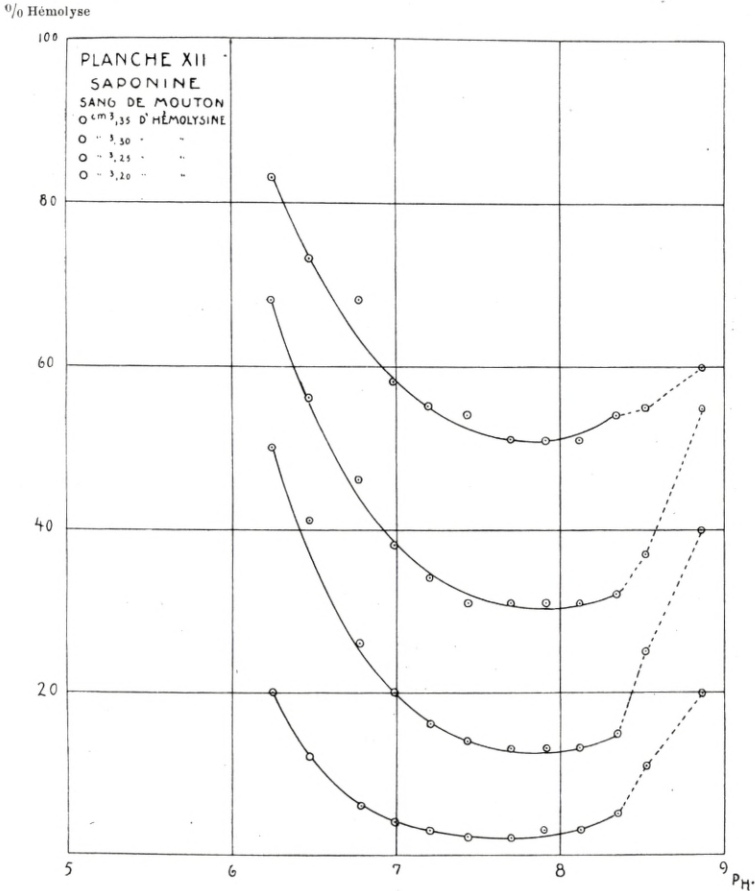
donc que les deux espèces de globules rouges réagissent dans des sens absolument contraires.

En vue d'obtenir une conception plus précise de l'importance de la concentration de l'hémolysine, j'ai organisé, pour les divers mélanges, des séries d'expériences où je mettais en œuvre des hémolysines de concentration variée.



Je me bornerai à en citer ici un nombre restreint, l'action de ce facteur s'étant montrée sensiblement identique dans un seul et même type de courbes.

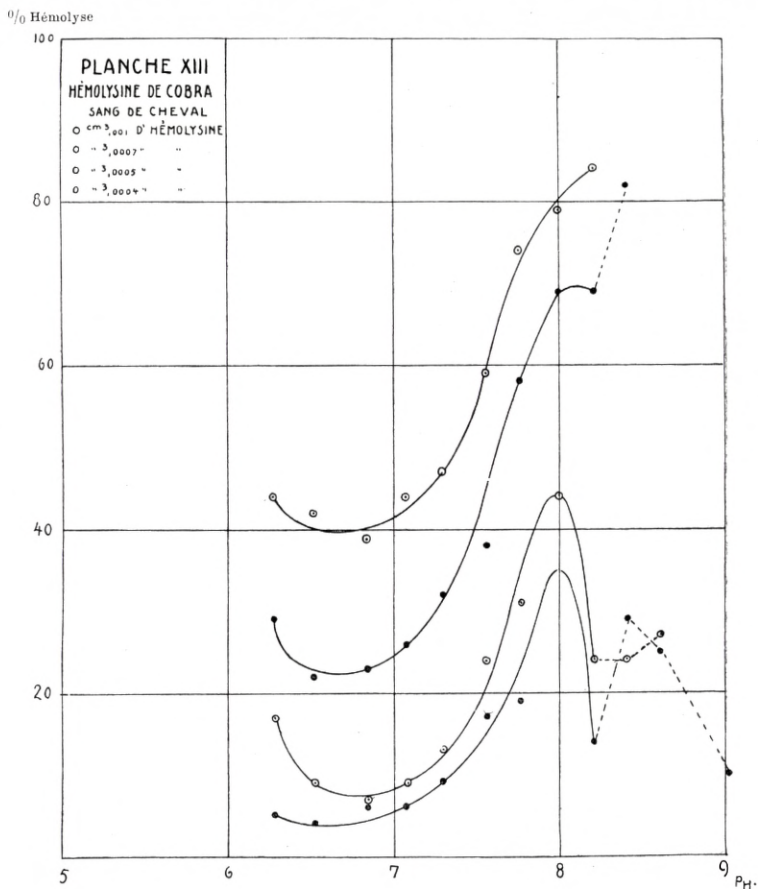
La planche IX représente l'action de l'eperialysine



vis-à-vis des globules de bœuf; les quatre expériences ont été réalisées avec respectivement 0,006 — 0,0045 — 0,0035 — 0,003 centimètres cubes d'hémolysine. Les courbes sont toutes d'allures parallèles, l'optimum restant stationnaire.

L'action de la vibriolysine sur les globules de cheval est représentée par la planche X; les quantités

d'hémolysine utilisées étaient de  $0\text{cm}^3,3$  —  $0\text{cm}^3,2$  —  $0\text{cm}^3,1$ . Ici encore, les courbes sont d'allures parallèles, avec toutefois un déplacement visible du minimum vers le côté



alcalin à mesure qu'augmente la concentration de l'hémolysine.

La planche XI reproduit l'influence du glycocholate de sodium sur les globules de cheval; on s'est servi, pour ces expériences, d'une solution à 5% de glycocholate sodique ajoutée en doses de 0,3 — 0,27 — 0,23 — 0,20 centimètres cubes. La marche de la réaction est tout à fait celle

que déterminait la vibriolysine : le déplacement du minimum par concentration croissante de l'hémolysine est nettement marqué,

Sur la planche XII se voit l'influence exercée par la saponine sur les globules de mouton; d'une solution à 0,4 % de saponine on mettait en œuvre des doses de 0,35 — 0,30 — 0,25 — 0,2 centimètres cubes. Les courbes ont des allures parallèles; le déplacement du minimum, si tant est qu'il y en ait, est fort peu prononcé.

La planche XIII qui fait voir l'action de l'hémolysine de cobra sur les globules de cheval, représente un mélange de cette catégorie où nous avons, à côté d'un optimum, un minimum d'action. Les courbes ont des allures uniformes et la situation du minimum ne semble pas dépendre de la concentration de l'hémolysine employée. Il en est de même de l'optimum d'action, situé vers  $p_{H^+} = 8$ , avec cette restriction qu'il paraît pourtant devenir de moins en moins

Planche IX. Epeiralysine + Globules r. de bœuf.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10% + 50 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 %  
= Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Tp. = 37°.

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH morm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 %, en cm <sup>3</sup>	pH.	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,006 d'épeiralysine	0cm <sup>3</sup> ,0045 d'épeiralysine	0cm <sup>3</sup> ,0035 d'épeiralysine	0cm <sup>3</sup> ,03 d'épeiralysine
1	180	0	20	6,00	2	12 (10)	10 (8)	2 (0)	2
2	130	0,5	19,5	6,27	2	25 (23)	16 (14)	6 (4)	2 (0)
3	180	1,0	19	6,51	2	60 (58)	25 (23)	12 (10)	9 (7)
4	180	1,5	18,5	6,74	2	85 (83)	60 (58)	26 (24)	16 (14)
5	180	2,0	18	6,96	2	100 —	72 (70)	42 (40)	28 (26)
6	180	2,5	17,5	7,15	2	100 —	85 (83)	53 (51)	35 (33)
7	180	3,0	17	7,32	2	100 —	90 (88)	60 (58)	40 (38)
8	180	3,5	16,5	7,54	2	100 —	90 (88)	60 (58)	42 (40)
9	180	4,0	16	7,77	2	100 —	85 (83)	50 (48)	30 (28)
10	180	4,5	15,5	7,96	2	95 (93)	70 (68)	38 (36)	20 (18)
11	180	5,0	15	8,17	2	75 (73)	30 (28)	20 (18)	12 (10)
12	180	6,0	14	8,61	20	16 —	15 —	8 —	10 —

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai, après déduction de l'hémolyse spontanée.

## Planche X. Vibriolysine + Globules r. de cheval.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 50 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 %  
= Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Tp. = 37°.

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 %, en cm <sup>3</sup>	pH.	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,3 de vibriolysine	0cm <sup>3</sup> ,2 de vibriolysine	0cm <sup>3</sup> ,1 de vibriolysine
1	180	0	20	6,26	2	100	90 (88)	42 (40)
2	180	0,5	19,5	6,54	2	100	85 (83)	40 (38)
3	180	1,0	19	6,82	2	100	80 (78)	30 (28)
4	180	1,5	18,5	7,10	2	95 (93)	75 (73)	28 (26)
5	180	2,0	18	7,28	2	90 (88)	65 (63)	21 (19)
6	180	2,5	17,5	7,58	2	80 (78)	55 (53)	17 (15)
7	180	3,0	17	7,74	2	75 (73)	50 (48)	15 (13)
8	180	3,5	16,5	7,86	2	70 (68)	36 (34)	13 (11)
9	180	4,0	16	8,12	2	63 (61)	34 (32)	12 (10)
10	180	4,5	15,5	8,36	2	58 (56)	33 (31)	14 (12)
11	180	5,0	15	8,65	4	55 (51)	38 (34)	14 (10)
12	180	6,0	14	9,05	5,5	48 —	33 —	30 —

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai, après déduction de l'hémolyse spontanée.

## Planche XI. Glycocholate de sodium + Globules r. de cheval.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 50 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 %  
= Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Tp. = 37°.

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 %, en cm <sup>3</sup>	pH.	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,3 de glyc. de sodium à 5 %	0cm <sup>3</sup> ,27 de glyc. de sodium à 5 %	0cm <sup>3</sup> ,23 de glyc. de sodium à 5 %	0cm <sup>3</sup> ,2 de glyc. de sodium à 5 %
1	180	0	20	6,38	2	100	100	80 (78)	40 (38)
2	180	0,5	19,5	6,58	2	100	100	65 (63)	25 (23)
3	180	1,0	19	6,84	2	100	80 (78)	40 (38)	12 (10)
4	180	1,5	18,5	7,08	2	100	65 (63)	25 (23)	6 (4)
5	180	2,0	18	7,27	2	100	50 (48)	20 (18)	6 (4)
6	180	2,5	17,5	7,46	2	75 (73)	43 (41)	18 (16)	5 (3)
7	180	3,0	17	7,71	2	60 (58)	32 (30)	15 (13)	4 (2)
8	180	3,5	16,5	7,90	2	50 (48)	25 (23)	13 (11)	5 (3)
9	180	4,0	16	8,09	2	40 (38)	18 (16)	15 (13)	7 (5)
10	180	4,5	15,5	8,26	2	33 (31)	20 (18)	16 (14)	8 (6)
11	180	5,0	15	8,44	4	35 (31)	20 (16)	16 (12)	8 (4)
12	180	6,0	14	8,86	5,5	55	45	45	40

Les chiffres donnés entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai, déduction faite de l'hémolyse spontanée.

Planche XII. Saponine + Globules r. de mouton.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 755 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 %  
= Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Tp. = 37°.

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	pH	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,35 de saponine à 0,4 %	0cm <sup>3</sup> ,3 de saponine à 0,4 %	0cm <sup>3</sup> ,25 de saponine à 0,4 %	0cm <sup>3</sup> ,2 de saponine à 0,4 %
1	180	0	20	6,24	2	85 (83)	70 (68)	52 (50)	22 (20)
2	180	0,5	19,5	6,47	2	75 (73)	58 (56)	43 (41)	14 (12)
3	180	1,0	19	6,78	2	70 (68)	48 (46)	28 (26)	8 (6)
4	180	1,5	18,5	6,99	2	60 (58)	40 (38)	22 (20)	6 (4)
5	180	2,0	18	7,20	2	57 (55)	36 (34)	18 (16)	5 (3)
6	180	2,5	17,5	7,43	2	56 (54)	33 (31)	16 (14)	4 (2)
7	180	3,0	17	7,70	2	53 (51)	33 (31)	15 (13)	4 (2)
8	180	3,5	16,5	7,92	2	53 (51)	33 (31)	15 (13)	5 (3)
9	180	4,0	16	8,12	2	53 (51)	33 (31)	15 (13)	5 (3)
10	180	4,5	15,5	8,34	2	56 (54)	34 (32)	17 (15)	7 (5)
11	180	5,0	15	8,51	5	60 (55)	42 (37)	30 (25)	16 (11)
12	180	6,0	14	8,96	20	80 (60)	75 (55)	60 (40)	45 (25)

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai déduction faite de l'hémolyse spontanée.

Planche XIII. Hémolysine de cobra + Globules r. de cheval.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % + 50 cm<sup>3</sup> de HCl à norm. au 1/10 + 750 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9 %  
= Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Tp. = 37°.

Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10 en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	pH	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,001 de cobra-ly sine	0cm <sup>3</sup> ,0007 de cobra-ly sine	0cm <sup>3</sup> ,0005 de cobra-ly sine	0cm <sup>3</sup> ,0004 de cobra-ly sine
1	180	0	20	6,28	1	45 (44)	30 (29)	18 (17)	6 (5)
2	180	0,5	19,5	6,52	1	43 (42)	23 (22)	10 (9)	5 (4)
3	180	1,0	19	6,84	1	40 (39)	24 (23)	8 (7)	7 (6)
4	180	1,5	18,5	7,08	1	45 (44)	27 (26)	10 (9)	7 (6)
5	180	2,0	18	7,30	1	48 (47)	33 (32)	14 (13)	10 (9)
6	180	2,5	17,5	7,56	1	60 (59)	40 (39)	25 (24)	18 (17)
7	180	3,0	17	7,76	1	75 (74)	60 (59)	32 (31)	20 (19)
8	180	3,5	16,5	8,00	1	80 (79)	70 (69)	45 (44)	36 (35)
9	180	4,0	16	8,22	1	85 (84)	70 (69)	25 (24)	15 (14)
10	180	4,5	15,5	8,42	3	100	85 (82)	27 (24)	32 (29)
11	180	5,0	15	8,62	15	100	100	42 (27)	40 (25)
12	180	6,0	14	9,02	70	100	100	100	80 (10)

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai déduction faite de l'hémolyse spontanée.

## Planche XIV. Staphylolysine + Globules r. de lapin.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10% + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 755 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9% = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH, norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9%, en cm <sup>3</sup>	Essai du 5 nov. 1912			Essai du 12 nov. 1912		
				pH.	Hémolyse spontanée	Lysine en 0cm <sup>3</sup> .04	pH.	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> .04 d'hémolyisine
1	180	0	20	6,03	22	60 (38)	5,51	30	75 (45)
2	180	0,5	19,5	6,40	12	55 (43)	5,99	18	70 (52)
3	180	1,0	19	6,71	2	50 (48)	6,25	14	65 (51)
4	180	1,5	18,5	7,01	2	45 (43)	6,62	13	67 (54)
5	180	2,0	18	7,24	2	40 (38)	6,83	11	70 (59)
6	180	3,0	17	7,70	2	42 (40)	7,34	11	65 (54)
7	180	3,5	16,5				7,55	11	68 (57)
8	180	4,0	16	8,10	2	70 (68)	7,78	11	73 (62)
9	180	4,5	15,5				8,05	11	80 (69)
10	180	5,0	15	8,52	25	50 (25)	8,23	27	55 (28)

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai, déduction faite de l'hémolyse spontanée.

## Planche XV. Oléate de sodium + Globules r. de lapin.

1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10% + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au 1/10 + 755 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,9% = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

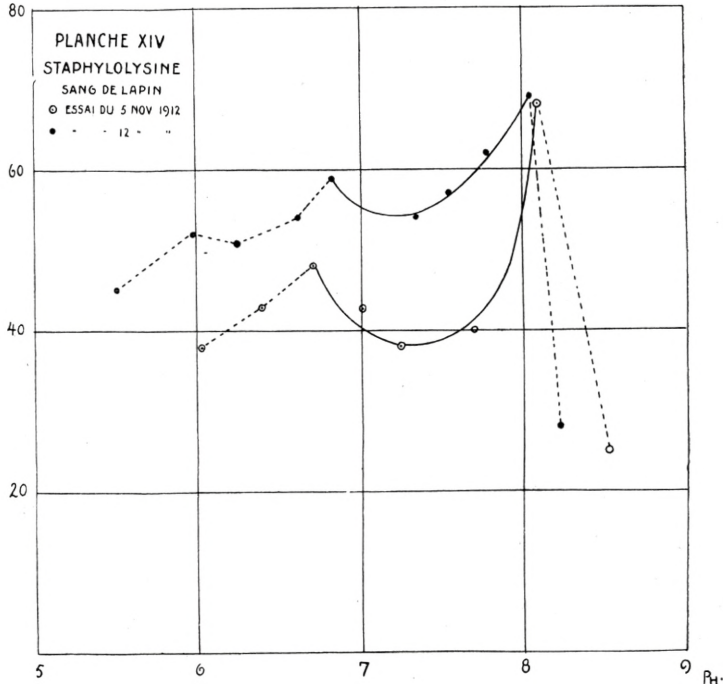
Numéro du mélange	Mélange A, en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9%, en cm <sup>3</sup>	Essai du 12/11 1912			Essai du 15/11 1912			Essai du 20/11 1912		
				pH.	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> .15 d'oléate de sodium à 1%	pH.	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> .14 d'oléate de sodium à 1%	pH.	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> .14 d'oléate de sodium à 1%
1	180	0	20	5,86	30	100	6,36	4,5	100	6,50	5	100
2	180	0,5	19,5	6,16	18	100	6,60	2	100	6,66	2	100
3	180	1,0	19	6,42	14	100	6,81	1	45 (44)	6,83	1	45 (44)
4	180	1,5	18,5	6,63	13	100	7,00	1	25 (24)	7,00	1	25 (24)
5	180	2,0	18	6,88	11	100	7,18	1	16 (15)	7,18	1	16 (15)
6	180	2,5	17,5				7,34	1	12,5 (11,5)	7,31	1	12 (11)
7	180	3,0	17	7,30	11	55 (44)	7,50	1	11,5 (10,5)	7,46	1	11 (10)
8	180	3,5	16,5	7,52	11	43 (32)	7,62	1	11 (10)	7,61	1	11 (10)
9	180	4,0	16	7,71	11	36 (25)	7,80	1	14 (13)	7,76	1	14 (13)
10	180	4,5	15,5	7,94	11	50 (39)	7,96	2	22 (20)	7,89	2	22 (20)
11	180	5,0	15	8,12	27	100	8,09	3,5	35 (31,5)	7,99	3,5	35 (31,5)

Les chiffres mis entre parenthèses représentent l'hémolyse constatée au cours de l'essai, déduction faite de l'hémolyse spontanée.

marqué à mesure qu'augment la concentration de l'hémolysine, pour finir par s'effacer complètement.

De ce qui précède on verra que la situation, et même la présence, des divers optima et minima dépend souvent dans une certaine mesure de la concentration de l'hémolysine employée.

% Hémolyse

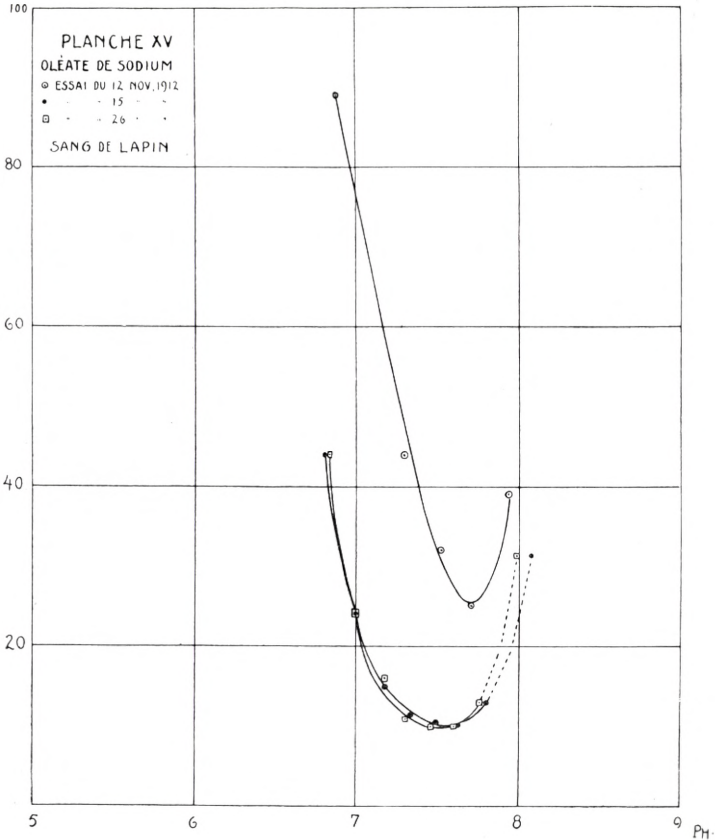


Comme nous l'avons dit plus haut (à la page 17), chacune des hémolysines considérées a été l'objet d'un nombre d'expériences bien supérieur à celui consigné ici, et ces expériences ont toujours donné des résultats concordants. Pour le montrer, je vais donner quelques exemples d'expériences effectuées à des dates différentes.

La planche XIV représente deux expériences portant sur la staphylolysine et sur des globules de lapin (les 5 et 12 nov., respectivement); la planche XV est construite avec les

résultats de trois expériences réalisées avec de l'oléate de sodium + des globules de lapin (les 12, 15 et 26 nov. 1912). On ne peut pas ne pas reconnaître l'accord qui existe entre les diverses expériences.

0/0 Hémolyse



Un facteur dont il n'a pas été tenu compte jusqu'ici est l'influence des mélanges tampons utilisés, qui étaient, dans les essais en question, les sérums normaux des diverses espèces de sang. Étant donné l'influence assez considérable qu'exercent souvent les sérums normaux dans les différentes réactions hémolytiques, influence susceptible de modifier ou



1000 cm<sup>3</sup> de sang à 10 % (sang et sérum dépareillés) + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au  $\frac{1}{10}$  + NaCl dissous, jusqu' 1800 cm<sup>3</sup> = Mélange A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du Mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	Globules r. de lapin + sérum de mouton Essai du 3 févr. 1913			
				pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,006 de venin de cobra à 2 %	÷ l'hémolyse spontanée
1	180	+0	+20	6,36	22	100	
2	180	+0,5	+19,5	6,58	7	70	63
3	180	+1,0	+19	6,77	6	50	44
4	180	+1,5	+18,5	7,00	5	38	33
5	180	+2,0	+18	7,20	3	32	29
6	180	+2,5	+17,5	7,39	3	30	27
7	180	+3,0	+17	7,62	3	28	25
8	180	+3,5	+16,5	7,81	3	28	25
9	180	+4,0	+16	8,05	3	32	29
10	180	+4,5	+15,5	8,24	4	40	36
11	180	+5,0	+15	8,44	7	52	45
12	180	+6,0	+14	8,87	45	100	

Globules r. de mouton + sérum de lapin Essai du 3 févr. 1913							
pH	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,0045 de venin de cobra à 2 %	÷ l'hémolyse spontanée				
1	180	+0	+20	5,69	7	30	23
2	180	+0,5	+19,5	5,92	7	50	43
3	180	+1,0	+19	6,20	7	60	53
4	180	+1,5	+18,5	6,42	7	60	53
5	180	+2,0	+18	6,66	7	70	63
6	180	+2,5	+17,5	6,93	7	70	63
7	180	+3,0	+17	7,14	7	70	63
8	180	+3,5	+16,5	7,40	7	70	63
9	180	+4,0	+16	7,65	7	65	58
10	180	+4,5	+15,5	7,90	7	55	48
11	180	+5,0	+15	8,14	7	43	36
12	180	+6,0	+14	8,65	15	28	13

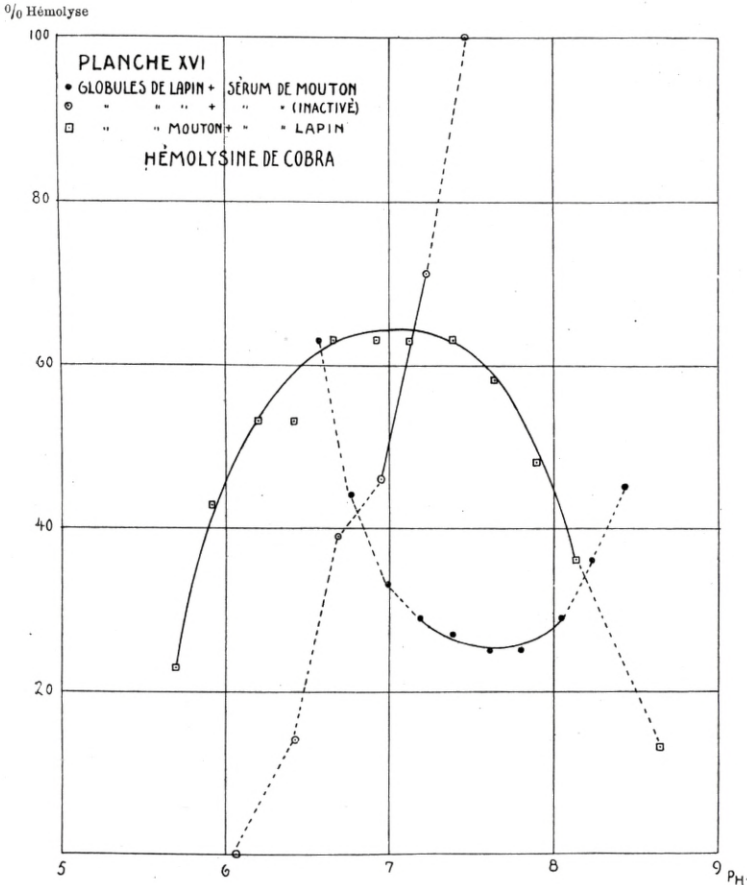
Numéro du mélange	Mélange A en cm <sup>3</sup>	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm	Globules r. de lapin + sérum de mouton inactivé Essai du 19 févr. 1913			
				p <sub>H</sub>	Hémolyse spontanée	0cm <sup>3</sup> ,04 de venin de cobra à 2 %	÷ P'hémo- lyse spontanée
1	180	+0	+20	5,33	57*)	45	0
2	180	+0,5	+19,5	5,60	65*)	40	0
3	180	+1,0	+19	5,84	65*)	40	0
4	180	+1,5	+18,5	6,06	65	45	0
5	180	+2,0	+18	6,42	36	50	14
6	180	+2,5	+17,5	6,68	21	60	39
7	180	+3,0	+17	6,96	14	60	46
8	180	+3,5	+16,5	7,23	14	85	71
9	180	+4,0	+16	7,47	14	100	
10	180	+4,5	+15,5	7,77	16	100	
11	180	+5,0	+15	8,06	50	100	
12	180	+6,0	+14	8,75	100	100	

\* Coloration en brun et agglutination provoquées par l'acide.

même d'arrêter la marche de ces processus, la question se pose de savoir si cette influence se fait sentir dans les cas d'hémolyse qui nous occupent ici.

Comme le montre la planche IV, l'action exercée par l'hémolysine de cobra sur les hématies de lapin présente un minimum vers p<sub>H</sub> = 7,7 environ, tandis que, dans l'expérience sur les hématies de mouton, nous avons un optimum vers p<sub>H</sub> = 7,9 environ. Je me suis servi de cette diversité des actions pour étudier le rôle joué par le sérum normal. J'ai substitué l'un à l'autre les deux sérums normaux en question, de manière à ce que l'une des expériences fût effectuée sur les hématies de lapin avec, pour tampon, le sérum de mouton, et que, dans l'autre, portant sur la réaction des hématies de mouton, le sérum de lapin fût employé comme tampon. Le sang en expérience était centrifugé, puis lavé par trois fois de façon habituelle avec une solution physiologique de chlorure de sodium; les hématies ainsi

lavées étaient délayées dans une solution de chlorure sodique renfermant du sérum de l'autre espèce de sang, qui avait été traitée de même et dont les globules rouges étaient délayés de leur côté dans le sérum dilué de la première



espèce de sang. Ces émulsions étaient complétées avec de l'acide chlorhydrique; on expulsait l'acide carbonique; — pour le reste, le dispositif expérimental était le même absolument que dans les essais similaires ci-dessus rapportés.

L'influence des sérums normaux se trouvant souvent neutralisée après 30 minutes de chauffage à 56° (processus

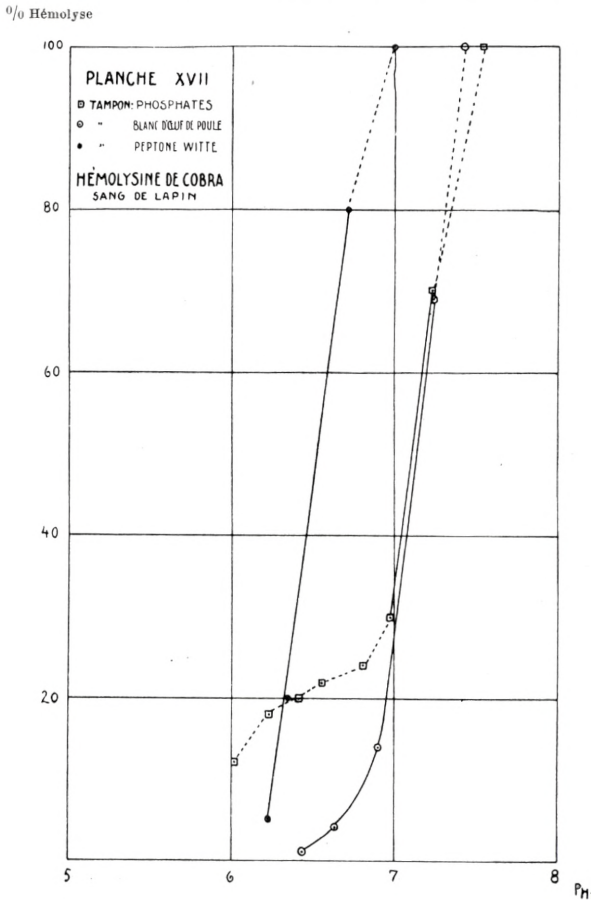
d'inactivation), j'ai jugé convenable d'entreprendre des expériences ultérieures afin d'arriver à mieux connaître ce phénomène. Le mélange en expérience étaient des globules rouges de lapin + du sérum inactivé de mouton, le tout additionné de venin de cobra. Les résultats sont représentés dans le tableau et dans la planche de courbes XVI.

Il résulte de ces essais que l'échange des deux sérums normaux n'a guère exercé d'influence sur l'allure générale des deux courbes respectives; les globules de lapin ont leur minimum situé au même point exactement ( $p_{H^+} = 7,7$ ), que le sérum employé soit celui de lapin ou celui de mouton. Dans le cas des hématies de mouton, il semble que la substitution du sérum de lapin à celui de mouton ait amené un déplacement de l'optimum vers le côté acide (de  $p_{H^+} = 7,9$  environ à  $p_{H^+} = 7,0$  environ).

Par contre, dans l'essai réalisé avec globules de lapin + sérum de mouton inactivé, l'état de choses paraît avoir été complètement changé par le processus d'inactivation, la courbe ayant pris la forme d'une droite. En même temps, la résistivité des globules vis-à-vis des acides et des alcalis s'est apparemment un peu affaiblie en présence du sérum inactivé, en sorte que la partie utilisable de l'expérience a considérablement diminué par suite de l'intervention de l'hémolyse spontanée.

Ceci étant, il devenait intéressant d'examiner l'influence qu'exerçaient les autres tampons. Dans la plupart des recherches faites jusqu'à présent sur l'action de la concentration en ions hydrogène dans les processus biologiques (enzymes, hémolysines, agglutinines, etc.) on s'est servi, pour maintenir constante la concentration ionique des liqueurs en expérience, de divers mélanges salins de composition connue (phosphates, borates, citrates, acétates, etc.); c'étaient donc là les tampons dont il importait en première ligne de connaître l'influence, et j'ai choisi pour mes essais des

mélanges de phosphates primaires et secondaires. En outre, j'ai effectué des expériences où le blanc d'œuf de poule ou bien la peptone Witte, tenait la place de tampon. Dans ces expériences, le sérum normal avait été enlevé et



les globules, lavées par trois fois, étaient délayées dans les solutions étendues des substances que je viens d'indiquer. Pour ces expériences, comme dans les précédentes, l'hémolysine utilisée était le venin de cobra. Les résultats se trouvent résumés dans les tableaux suivants et le planche XVII.

Globules rouges de lapin dans divers mélanges tampons.  
Mélanges phosphatiques.

Les globules rouges lavés de 100cm<sup>3</sup> de sang de lapin défibriné, délayées ensuite dans une solution de chlorure sodique jusqu'à 900cm<sup>3</sup> = A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	sec. *) en cm <sup>3</sup>	prim. *) en cm <sup>3</sup>	norm. au 1/10, en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 0/0 en cm <sup>3</sup>	A en cm <sup>3</sup>	Essai du 10 févr. 1913			
						P <sub>H</sub> .	Hémo- lyse spon- tanée	0 cm <sup>3</sup> ,01 de venin de cobra à 2 0/0	÷ l'hémo- lyse spontanée
1	2,5	+2,5	+3,0 HCl	+47	+45	5,17	36**)	30	
2	2,5	+2,5	+2,5 "	+47,5	+45	5,75	30**)	32	
3	2,5	+2,5	+2,0 "	+48	+45	6,02	28	40	12
4	2,5	+2,5	+1,5 "	+48,5	+45	6,23	24	42	18
5	2,5	+2,5	+1,0 "	+49	+45	6,42	16	36	20
6	2,5	+2,5	+0,5 "	+49,5	+45	6,57	12	34	22
7	2,5	+2,5	+0 "	+50	+45	6,81	11	35	24
8	2,5	+2,5	+0,5 NaOH	+49,5	+45	6,97	10	40	30
9	2,5	+2,5	+1,0 "	+49	+45	7,22	10	80	70
10	2,5	+2,5	+1,5 "	+48,5	+45	7,53	10	100	
11	2,5	+2,5	+2,0 "	+48	+45	7,84	10	100	
12	2,5	+2,5	+2,5 "	+47,5	+45	8,25	20	100	

\*) Mélanges phosphatiques de S.-P.-L. SØRENSEN.

\*\*\*) Coloration en brun et agglutination.

Des expériences ci-dessus enregistrées il appert que les trois mélanges tampons considérés ont pour effet de modifier considérablement la forme de la courbe primitive, fournie par le sérum de lapin; les trois courbes ont des allures à peu près uniformes, qui rappellent celle obtenue avec le sérum inactivé de mouton.

Ces résultats d'expériences qui ne représentent toutefois que l'action d'une seule hémolysine, font penser que la nature du mélange tampon pourrait bien jouer un rôle dans la dépendance de l'hémolyse vis-à-vis de la concentration en ions hydrogène.

Il sera donc pratique, dans les recherches relatives à l'influence de la concentration en ions

Blanc d'œuf de poule.

Les globules rouges lavés de 100 cm<sup>3</sup> de sang de lapin défibriné + 43<sup>g</sup> de blanc d'œuf de poule + 47 cm<sup>3,5</sup> de HCl norm. au  $\frac{1}{10}$  + du NaCl dilué, jusqu'à 1800 cm<sup>3</sup> = A.

On en expulse l'acide carbonique.

Rem. Le blanc d'œuf est dissous, puis additionné d'acide chlorhydrique; après  $\frac{1}{2}$  heure de repos, à 18°, la solution est filtrée et les globules sont ajoutés.

Numéro du mélange	cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	A en cm <sup>3</sup>	Essai du 15 févr. 1913			
				pH	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3,001</sup> de venin de cobra à 2 %	÷ l'hémo-lyse spontanée
1	0,5 $\frac{n}{10}$ HCl	+ 9,5	+90	5,62	30	10	
2	0,25 "	+ 9,75	+90	5,87	25	10	
3	0 "	+10	+90	6,18	18	15	
4	0,25 $\frac{n}{10}$ NaOH	+ 9,75	+90	6,44	11	12	1
5	0,5 "	+ 9,5	+96	6,64	11	15	4
6	0,75 "	+ 9,25	+90	6,90	11	25	14
7	1,0 "	+ 9,0	+90	7,22	11	80	69
8	1,25 "	+ 8,75	+90	7,42	11	100	
9	1,5 "	+ 8,5	+90	7,77	11	100	
10	2,0 "	+ 8,0	+90	8,20	16	100	
11	2,5 "	+ 7,5	+90	8,77	55	100	

Peptone Witte.

Les globules rouges lavés de 100 cm<sup>3</sup> de sang de lapin défibriné + 90 cm<sup>3</sup> de peptone Witte dilué + 45 cm<sup>3</sup> de HCl norm. au  $\frac{1}{10}$  + du NaCl à 0,9 %, jusqu'à 1800 cm<sup>3</sup> = A.

On en expulse l'acide carbonique.

Numéro du mélange	NaOH norm. au $\frac{1}{10}$ en cm <sup>3</sup>	NaCl à 0,9 % en cm <sup>3</sup>	A en cm <sup>3</sup>	Essai du 15 févr. 1913			
				pH	Hémo-lyse spontanée	0cm <sup>3,001</sup> de venin de cobra à 2 %	÷ l'hémo-lyse spontanée
1		+10	+90	5,77	50	10	
2	0,5	+ 9,5	+90	5,98	35	10	
3	0,75	+ 9,25	+90	6,11	20	10	
4	1,0	+ 9,0	+90	6,24	10	15	5
5	1,25	+ 8,75	+90	6,36	10	30	20
6	1,5	+ 8,5	+90	6,47	10	50	40
7	2,0	+ 8,0	+90	6,72	10	90	80
8	2,5	+ 7,5	+90	7,00	10	100	
9	3,0	+ 7,0	+90	7,22	10	100	
10	3,5	+ 6,5	+90	7,51	10	100	
11	4,0	+ 6,0	+90	7,77	10	100	
12	4,5	+ 5,5	+90	8,00	12	100	

hydrogène, de maintenir aussi constants que possible les éléments constitutifs du mélange en expérience, ceux qui participent au processus autres, — tant au point de vue de leurs proportions relatives qu'à celui de leur natures spécifiques, et de ne pas en ajouter de nouveaux.

Voilà une des raisons qui m'ont décidé à employer comme tampon, dans mes essais, le sérum normal de l'espèce de sang considérée, ce dernier se trouvant ordinairement, en quantités minimales, il est vrai, dans les liquides tenant en suspension les hématies lavées. Dans les expériences ici communiquées, j'ai dû en augmenter considérablement la proportion pour obtenir une action suffisamment forte de tampon (assurant la gradation régulière des séries d'expériences).

Les résultats obtenus mettent en évidence le rôle extrêmement important que joue la concentration ionique dans la plupart des cas d'hémolyse. Si l'on songe aux quantités (absolues) infiniment petites d'acide et de base qui suffisent pour provoquer dans une solution neutre, dépourvue de tampon, un déplacement de la concentration ionique de  $p_H = 7$  à  $p_H = 6$  environ ou à  $p_H = 8$  environ, respectivement, — et aussi qu'un tube en verre ordinaire peut fournir des quantités sensiblement plus grandes, on comprend combien il est nécessaire, dans toutes les essais de ce genre, de pourvoir la liqueur en expérience d'un tampon approprié.

Il n'est guère possible d'indiquer un tampon qui puisse servir dans les diverses recherches sur l'hémolyse; pour chaque cas particulier, on sera obligé de choisir, moyennant des essais préalables, l'espèce de tampon qui convient. Toutes les fois que rien ne s'y oppose, je conseillerais de traiter les hématies dans leur propre sérum à une concentration de 2—3%. Dans beaucoup de recherches sur l'hémolyse, telles que, par exemple, les essais ayant trait



à la fixation du complément (réaction de Wassermann) où les quantités de sérum en expérience se trouvent additionnées de 2% de sérum de cobaye, on n'aura guère besoin d'ajouter en outre un tampon particulier. Remarquons à ce sujet que si, dans la réaction de Wassermann, les « erreurs fortuites » ne se produisent pour ainsi dire jamais, ce fait doit être attribué sans doute en première ligne à la présence dans les mélanges de substances tampons.

Mais tout en étant d'avis que la concentration en ions hydrogène exerce une très grande influence sur les processus d'hémolyse et qu'un nombre considérable des « irrégularités » qui entachaient les expériences antérieures doivent être attribuées aux modifications introduites dans la concentration ionique, je tiens à signaler, en terminant cette étude, la présence probable d'autres facteurs de nature encore inconnue et d'action similaire; rappelons seulement pour mémoire cette observation faite par ATKINS (3), selon laquelle des quantités minimes de diverses substances telles que sérums, bouillons, peptone, oxalate de potassium et citrate de sodium, suffisent pour supprimer entièrement l'agglutination spontanée des globules, qui se produit souvent dans les émulsions sanguines et qui peut de son côté déterminer une hémolyse partielle. Étant donné l'extrême petitesse des quantités actives (citrate de potassium:  $1/50000$ , peptone:  $1/150000$ , etc.), il ne saurait s'agir ici d'une action tampon à l'endroit des acides et des bases. Les causes de l'équilibre et de la stabilité obtenues dans les émulsions sanguines doivent plutôt être cherchées dans de certaines conditions de tension superficielle; si tel était le cas, les substances ajoutées pourraient être regardées comme des manières de tampons servant à régler les variations qui peuvent se produire dans les phénomènes de ce genre.

Que si l'on se demande comment il a été possible de mener à bonne fin de grandes et étendues recherches, com-

portant des séries d'expériences régulières, en se servant de la technique, actuellement employée, qui ne tient pas compte de la concentration en ions hydrogène ni des modifications provoquées par elle, ce fait s'explique sans doute dans beaucoup de cas par l'addition inconsciente de substances plus ou moins « tampons », ou bien par l'usage de mélanges où la concentration en ions hydrogène était de faible importance (voir par exemple l'action exercée par la saponine sur les hématies de cheval).

Comme il été dit plus haut, chacune des hémolysines était mise en œuvre dans plusieurs expériences qui ont toujours donné des résultats concordants. Cette concordance des résultats est très importante : sans elle on pourrait être tenté d'attribuer à des causes accidentelles les différences d'allure qui existent entre les diverses catégories de courbes.

D'ailleurs je me rends parfaitement compte que les recherches dont je rapporte ici les résultats ne sauraient donner qu'une vue d'orientation préalable du rôle joué par la concentration ionique dans les processus d'hémolyse ; pour porter la lumière complète sur ce terrain on devra se baser sur une étude bien plus approfondie des phénomènes en question.

## BIBLIOGRAPHIE.

---

1. ARRHENIUS, Sv. et MADSEN, Th.: Z. f. physik. Ch. XLIV (1913). 1.
  2. ARRHENIUS, Sv.: Medd. fr. K. Vetenskapsakad. Nobelinstitut. Bd. 1. No. 10.
  3. ATKIN, E. E.: Comm. de l'Institut. Sérothérap. de l'État Danois. Tome III (1909) et Z. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. (1909).
  4. FRIEDEMANN, M. et SACHS, F.: Bioch. Zeitschr. Bd. 12. (1908).
  5. HAMBURGER, H. J.: Osmot. Druck- und Ionenlehre. Bd. 1. p. 334. (1902).
  6. HASSELBALCH, K. A.: Bioch. Zeitschr. Bd. 30. (1911).
  7. — — — — — Bd. 49. (1913).
  8. MADSEN, Th.: Kraus u. Levaditi: Handb. d. Tekn. u. Metodik der Immun. Bd. 1.
  9. MICHAELIS, L. et TAKAHASHI, D.: Bioch. Zeitschr. Bd. 29. (1910).
  10. MICHAELIS, L. et SKWIRSKY, P.: Z. f. Immunitätsforsch. Bd. 4. (1910).
  11. RONDONI, P.: Z. f. Immunitätsforsch. Bd. 7. (1910).
  12. SACHS, F.: Bioch. Zeitschr. Bd. 12. (1908).
  13. SØRENSEN, S.-P.-L.: Études enzymatiques II. — Comptes rendus du Laboratoire de Carlsberg, t. VIII (1909) et Bioch. Zeitschr. Bd. 21 (1909).
  14. SØRENSEN, S.-P.-L.: Über die Messung und Bedeut. der Wasserstoffionenkonzentration bei biol. Prozessen in Ergebn. d. Physiol. von L. Ascher u. K. Spiro (1912).
-