

Protéines, glyco et lipoprotéines du Sérum de Chien normal selon l'âge (Electrophorèse sur papier)

par J. GROULADE (1) et P. GROULADE (2)

(Note présentée par M. Drieux)

Les protéines sériques du chien ont déjà été étudiées par l'électrophorèse en milieu liquide (1, 6, 11) et par la méthode de séparation sur papier (2, 3, 4, 8, 9 et 18). Les études sur les lipoprotéines sont déjà plus rares (3, 5) et nous n'avons pas eu connaissance d'études des glycoprotéines. La plupart des échantillons sont assez réduits et ne tiennent pas compte de l'influence de l'âge dont l'importance nous a été révélée au cours de l'examen de 1.500 sérums de chiens normaux et pathologiques. Cette étude est le développement d'un travail préliminaire (11).

TECHNIQUES

Les protéines totales ont été déterminées par la méthode densimétrique de Philips et Van Slyke.

Les séparations électrophorétiques ont été faites sur un appareil à chevalet horizontal réalisant une humidité homogène sur toute la surface utile de la bande de papier (Schleicher et Schull n° 2.043 a) avec le tampon de DURRUM (pH 8,6 — force ionique 0,1) sous une différence de potentiel de 8 v/cm et 0,30 mA/cm pendant 6 h. Les bandes sont séchées en 15 minutes par un rayonnement infra-rouge.

Les colorations sont faites pour les *protéines* selon la technique de Grassmann Hannig et Knedel (amidoschwartz 10 B). L'ordonnée des courbes correspond à la densité optique de la bande, déterminée millimètre par millimètre à travers le filtre orange de Grassmann et Hannig après imprégnation à l'huile de paraffine. Leur décomposition est faite en albumines, alpha-1, alpha-2, bêta-1, bêta-2 et gamma. Les globulines alpha ont été décomposées en 3 fractions par BOGUTH (2), MUNRO et AVERY (in 12), STORCK (in 12), OTT et SCHETTLER (in 12), HERMAN (12) et GEINITZ (6), Ce dernier auteur

(1) Service de Biochimie médicale, centre hospitalier de Grenoble, la Tronche (Isère)

(2) Vétérinaire, 38, rue de Paris, Orsay (S.-et-O.)

a décomposé les globulines beta en 3 fractions. LEWIS et PAGE (in 12) et la plupart des auteurs ci-dessus ont décomposé aussi les globulines gamma en 2 sous-fractions, ce qui nous a paru difficile. Pour les alpha et bêta globulines, la subdivision est possible dans un certain nombre de cas mais manque de netteté le plus souvent. A l'inverse, CHOPARD (4) n'a décomposé aucune des globulines. Cette interprétation assure probablement des résultats plus reproductibles. Mais les modifications physiologiques et pathologiques que nous avons observées correspondent à l'existence d'au moins 2 fractions pour les globulines beta et surtout alpha. Certains sérums donnent des fractions alpha dont la limite avec les albumines et les globulines beta est difficile à préciser.

Les *lipoprotéines* sont révélées par la méthode de SWAHN (17) au noir cérol B. La photométrie est faite à travers le filtre orange après imprégnation par la glycérine. La courbe est décomposée en alpha-1 et alpha-2, bêta et gamma ; un grand nombre de sérums présente des fractions immobiles riches en lipides qui ont été comptées avec les gamma.

Les *glycoprotéines* sont mises en évidence par la méthode de HOTCHKISS (in 13) dans laquelle le bain réducteur a été supprimé ; elles correspondent aux substances aux dépens desquelles l'oxydation périodique libre des fonctions aldehydes donnant avec la fuchsine sulfitée un composé d'addition coloré en violet qui est photométré à travers un écran WRATTEN 55.

Les courbes densitométriques sont décomposées en albumine, alpha, bêta et gamma ; Les sous-fractions alpha et beta ont été réunies en raison de la difficulté d'une séparation précise chez un grand nombre de sujets.

DESCRIPTION DE L'ÉCHANTILLONNAGE.

76 sérums de chiens normaux âgés de 1 mois à 18 ans ont été étudiés, pour 7 le sexe n'avait pas été noté, les 69 autres comprennent 34 femelles et 35 mâles. L'ensemble a été réparti suivant l'âge en sept groupes (voir tableau), les sujets les plus jeunes avaient un mois, la catégorie de sujets âgés de plus de 9 ans comprend 3 individus de plus de 14 ans ; le plus âgé a 18 ans. Les prélèvements ont eu lieu à jeun depuis 8 à 12 heures.

Ces animaux n'ont présenté dans le mois précédent et suivant le prélèvement aucun signe d'affection aiguë ou chronique. Les sujets âgés avaient un taux d'urée inférieur à 0,50 g/l.

Pour chaque serum trois séparations ont été faites en déposant transversalement sur la bande de papier un volume inversement proportionnel au taux de protéines et correspondant à 7,5 mm³ de sérum pour un taux de 72 g/l. Pour les glyco et lipoprotéines, on a déposé uniformément 40 mm³ de sérum.

Les coefficients glyco et lipoprotéiques ont été déterminés pour 21 sérums en prenant comme témoin le même mélange de sérums humains normaux conservé congelé. Les différents résultats sont exprimés sous forme de moyenne accompagnée de leur écart standard.

RÉSULTATS

I. *Protéines.* (tableau 1).

Les *protéines totales* très basses chez le jeune augmentent progressivement avec l'âge en 4 étapes : 1 mois à 2 mois et demi, 2 mois et demi à 4 mois, 4 mois à 2 ans et plus de 2 ans. En outre, indépendamment de l'âge, les protéines totales sont essentiellement variables chez le chien comme en témoignent les résultats de différents auteurs : OTT et SCHETTLER (54,9 g/l) ZELDIS et ALLING (56,6 g/l) (12), nous-mêmes (57 g/l en 1953), BOGUTH (63 ± 4) (2), HERMAN (63,6 ± 6,2) (12), CHOPARD (67,1) (4), nous-mêmes en 1954 (entre 62,5 et 65,5 au-dessus de 2 ans) (9). Les méthodes de dosage ne paraissent pas en cause puisque les chiffres de BOGUTH qui a utilisé la méthode de Philips et Van Slyke sont du même ordre que ceux de HERMAN qui a utilisé la méthode de Kjeldahl. Nos écarts-types dépassent 4 fois 6 g/l montrant la diversité des valeurs de protéines totales et expliquant la possibilité de séries, dont les moyennes sont très différentes (8-9).

Dans nos séries la valeur relative des *albumines* part d'un maximum pour diminuer et reprendre à 3 mois une valeur stable jusqu'à 3 ans et diminuer ensuite. Les valeurs absolues montrent une progression régulière avec l'âge. Deux sujets d'un mois présentaient une fraction rapide analogue à celles qui ont été décrites chez l'homme par GRABAR (7) et LEWIN et coll. (14).

Lors d'études antérieures nous avons trouvé des taux d'albumine nettement plus élevés. Ceci tient à une modification de la technique de coloration. Au lieu de la technique originale de Grassmann et Hannig utilisée ultérieurement, le dernier bain méthylique ne contenait pas d'acide acétique ; dans ces conditions les globulines retiennent moins bien le colorant.

TABLEAU 1 — PROTEINES

VALEURS RELATIVES

| AGE | Nbre de CAS | PROTEINES TOTALES | ALBUMINE | ALPHA - 1 | ALPHA - 2 | BETA - 1 | BETA - 2 | GAMMA |
|--------------|-------------|-------------------|----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|
| 1 MOIS | 10 | 29.1 3.5 | 57.3 3.4 | 11.3 3.6 | 6.5 1.2 | 11.2 2.7 | 10.9 1.6 | 6.8 1.8 |
| 1.5 MOIS | 10 | 30.3 2.8 | 49.4 4 | 10.8 2.7 | 8.9 1.8 | 8.8 1.5 | 13.7 1.4 | 8.2 3.3 |
| 2.5 - 3 MOIS | 15 | 42.9 4.4 | 51.5 4.6 | 10.1 1.9 | 7.5 2.1 | 8.9 2.3 | 13.1 1.5 | 8.8 2.1 |
| 4 - 12 MOIS | 11 | 46 7.1 | 52.4 6 | 7.6 2.5 | 7.5 2.4 | 8.7 1.5 | 12.3 1.8 | 10.4 3 |
| 1 - 2 ANS | 11 | 47.3 5 | 51.5 5.5 | 6.2 2.2 | 8 3.6 | 8.1 2.4 | 11.8 2.7 | 13.1 3.5 |
| 3 - 9 ANS | 9 | 55 4.6 | 48 5.5 | 6.3 1.1 | 9.8 1.5 | 10 1.5 | 12.6 2.2 | 13.3 3.7 |
| + DE 9 ANS | 8 | 56.5 8.1 | 43.4 6.6 | 5.4 1.1 | 10 2.3 | 11.5 2.9 | 13.7 3.3 | 16 5.6 |

* Moyenne accompagnée de l'écart quadratique

VALEURS ABSOLUES

| | | | | | | | | |
|--------------|----|--|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 MOIS | 10 | | 15.6 2.7 | 3.3 1 | 1.9 0.3 | 3.3 0.8 | 3.2 0.7 | 2 0.4 |
| 1.5 MOIS | 10 | | 16.1 3.9 | 3.4 0.7 | 3 1.6 | 2.9 1 | 4.5 2.2 | 2.7 1.3 |
| 2.5 - 3 MOIS | 15 | | 21.9 2.9 | 4.8 0.6 | 3.1 0.8 | 3.9 1.2 | 5.7 1.2 | 3.7 1 |
| 4 - 12 MOIS | 11 | | 24.3 3.6 | 3.5 1 | 3.5 1.1 | 3.8 0.7 | 5.8 1.6 | 5 2.4 |
| 1 - 2 ANS | 11 | | 24.4 3.6 | 3.1 1 | 4.2 1.7 | 3.8 1.3 | 5.6 1.2 | 6.2 1.8 |
| 3 - 9 ANS | 9 | | 26.4 3.3 | 3.5 0.7 | 5.4 0.9 | 5.5 1.2 | 6.9 1.4 | 7.3 2 |
| + DE 9 ANS | 8 | | 25.6 4.8 | 3.1 0.9 | 5.6 1.2 | 6.4 1.1 | 7.8 2.4 | 9.2 4 |

PROTÉINES

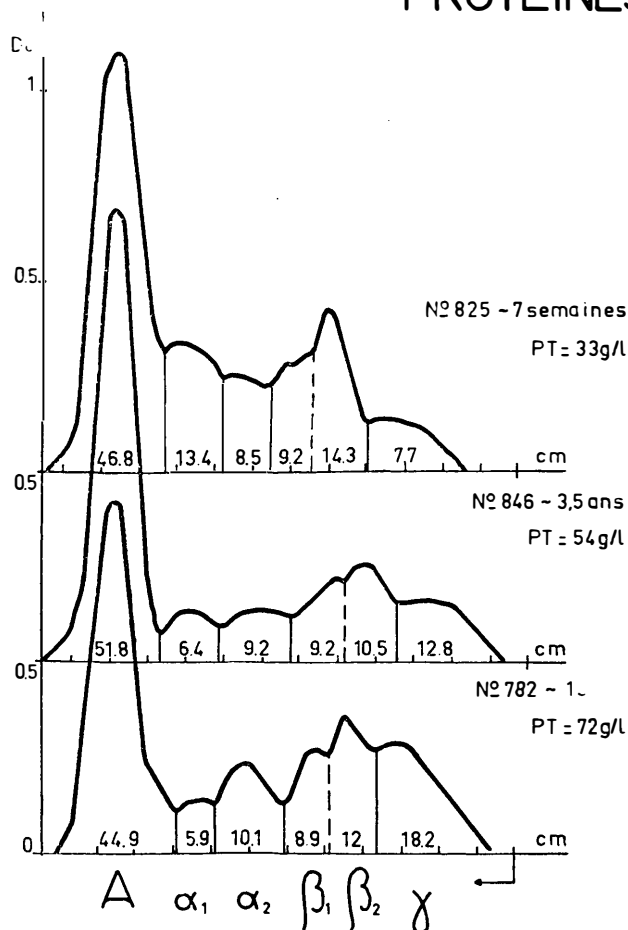


Fig. 1. — Protéines.

Prédominance de la fraction alpha rapide chez le jeune (n° 825), augmentation progressive des globulines gamma et des protéines totales avec l'âge.

Le *groupe alpha* est caractérisé par une prédominance de la fraction rapide chez le jeune puis de la fraction lente à partir de 2 ans. Les valeurs absolues montrent que la fraction alpha-1 est en réalité très stable.

Dans le *groupe bêta*, à 1 mois, les 2 fractions sont à peu près également réparties mais avec un pic Bêta-2 bien individualisé qui le restera par la suite avec une valeur nettement supérieure.

Au-dessus de 3 ans la fraction bêta-1 s'élève. Les valeurs absolues montrent une augmentation régulière qui est proportionnellement la plus importante de toutes les fractions protéiques.

Les *globulines gamma* s'accroissent régulièrement avec l'âge. Cette augmentation est encore plus nette en valeur absolue.

II — *Glycoprotéines* (tableau 2).

Sous ce terme nous acceptons la définition des substances p.a.s. positives, bien qu'elles ne soient pas à l'abri de toute critique.

GLYCOPROTÉINES.

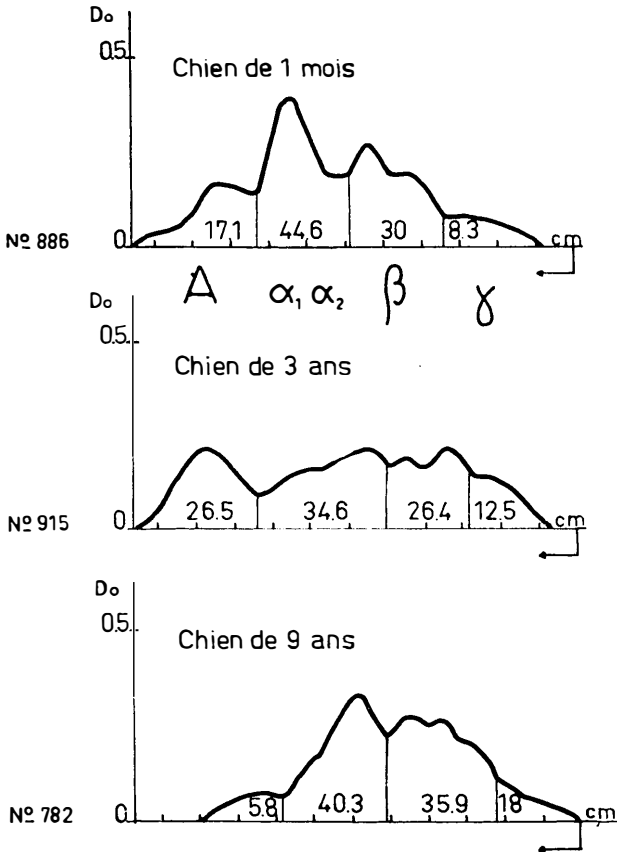


Fig. 2. — *Glycoprotéines*.
Variation parallèle à celle des fractions protéiques.

TABLEAU 2 – LIPOPROTEINES

VALEURS RELATIVES

| AGE | Nbre de CAS | ALPHA-1 | | ALPHA-2 | | BETA | | NEUTRES | |
|--------------|-------------|---------|-----|---------|-----|------|-----|---------|------|
| 1 MOIS | 10 | 46.7 | 5.2 | 8.5 | 2.7 | 26.1 | 6.7 | 18.7 | 10.9 |
| 1.5 MOIS | 10 | 60 | 7.3 | 8.6 | 3.7 | 15.7 | 5.1 | 15.1 | 2.7 |
| 2.5 - 3 MOIS | 17 | 62.4 | 10 | 11.9 | 5.5 | 19.3 | 6.1 | 6.4 | 5.7 |
| 4 - 12 MOIS | 11 | 59.4 | 6.5 | 15.3 | 5.2 | 14.5 | 3.1 | 10.5 | 4 |
| 1 - 2 ANS | 11 | 70 | 4.6 | 11.5 | 4.1 | 14.2 | 3.5 | 3.8 | |
| 3 - 9 ANS | 9 | 64.2 | 6 | 13.5 | 2.7 | 12.8 | 5.2 | 9.3 | 5.3 |
| + DE 9 ANS | 8 | 59.4 | 3.5 | 13 | 3.5 | 12.5 | 2.4 | 14.3 | 13.7 |

GLYCOPROTEINES

VALEURS RELATIVES

| AGE | Nbre de CAS | ALBUMINE | | ALPHA -1 ALPHA -2 | | BETA | | GAMMA | |
|--------------|-------------|----------|-----|----------------------|-----|------|-----|-------|-----|
| 1 MOIS | 10 | 13.9 | 3.9 | 46.4 | 5 | 27.6 | 9.7 | 12.2 | 3.8 |
| 1.5 MOIS | 10 | 12.2 | 5.8 | 46.4 | 5.3 | 28.8 | 5.2 | 12.7 | 5.6 |
| 2.5 - 3 MOIS | 17 | 10.9 | 6.3 | 44.1 | 7.5 | 30.6 | 6.2 | 14.5 | 4.4 |
| 4 - 12 MOIS | 11 | 12.3 | 3.5 | 40.2 | 7.8 | 29.4 | 7.2 | 10.4 | 2.8 |
| 1 - 2 ANS | 11 | 13 | 4.5 | 36 | 8.6 | 32.8 | 5.1 | 15.9 | 5.9 |
| 3 - 9 ANS | 9 | 10.4 | 6.3 | 42 | 8.4 | 31.5 | 7.3 | 13.4 | 3.7 |
| + DE 9 ANS | 8 | 10.5 | 5.1 | 41.5 | 2.8 | 34.8 | 4.4 | 13.1 | 3.9 |

Les glycoprotéines correspondant aux *albumines* sont peu importantes et relativement stables au cours de la vie. Le groupe *alpha* est le plus important et apparaît assez stable aussi. En réalité, bien que nous ayons renoncé à le scinder en deux, l'examen du profil des courbes met en évidence une prédominance nette de la fraction rapide jusqu'à 4 mois tandis que la fraction lente est plus importante chez les sujets âgés.

Dans le groupe *bêta*, *bêta-1* prédomine jusqu'à 12 mois, les deux fractions deviennent ensuite égales et difficiles à individualiser.

Les glycoprotéines *gamma* sont du même ordre de grandeur que la fraction correspondant à l'albumine et ne semblent pas varier avec l'âge. L'écart-type pour toutes ces fractions est très élevé. Le coefficient glycoprotéique qui n'a été déterminé que sur une petite partie des sujets est de $76,5 \pm 3,8$ à un mois, $87,6 \pm 8,4$ de 4 à 12 mois, et $92 \pm 5,6$ de 3 à 9 ans. L'ensemble des glycoprotéines croît donc avec l'âge.

III — *Lipoprotéines* (Tableau 2).

Le groupe *alpha-1* est le plus important à tous les âges. Sa valeur la plus basse est observée à 1 mois. Il atteint son maximum chez les sujets de 1 à 2 ans.

Le groupe *alpha-2* est quelquefois difficile à séparer du groupe précédent. Il est plus important à partir de 3 mois, il atteint son maximum entre 4 et 12 mois.

Le groupe *bêta* correspondant aux fractions protéiques *bêta-1*, est très important chez le jeune et diminue avec l'âge. Un sujet de 1 mois (n° 887) a un taux de 41,2 % alors que la moyenne de cet âge est de $26,1 \% \pm 6,7$ ce qui explique d'ailleurs l'importance de cet écart. Un sujet de 6 ans ne présente aucune fraction appartenant à ce groupe.

Le groupe de *mobilité gamma ou nulle* est en général très peu important mais souvent une fraction riche en particules lipidiques ne présentant aucune mobilité électrophorétique reste sur la zone du dépôt ; chez 20 sujets, elle dépasse 15 %. Elle constitue souvent une tâche bien délimitée à un maximum net (voir n° 877 et 795) très dense, de même forme que celle obtenue par simple dépôt du sérum sur le papier, sans migration électrophorétique. Elle s'accompagne souvent d'une traînée qui s'épuise avant d'atteindre la zone de migration des lipoprotéines *bêta*.

Au cours d'un autre travail portant sur l'étude des lipoprotéines

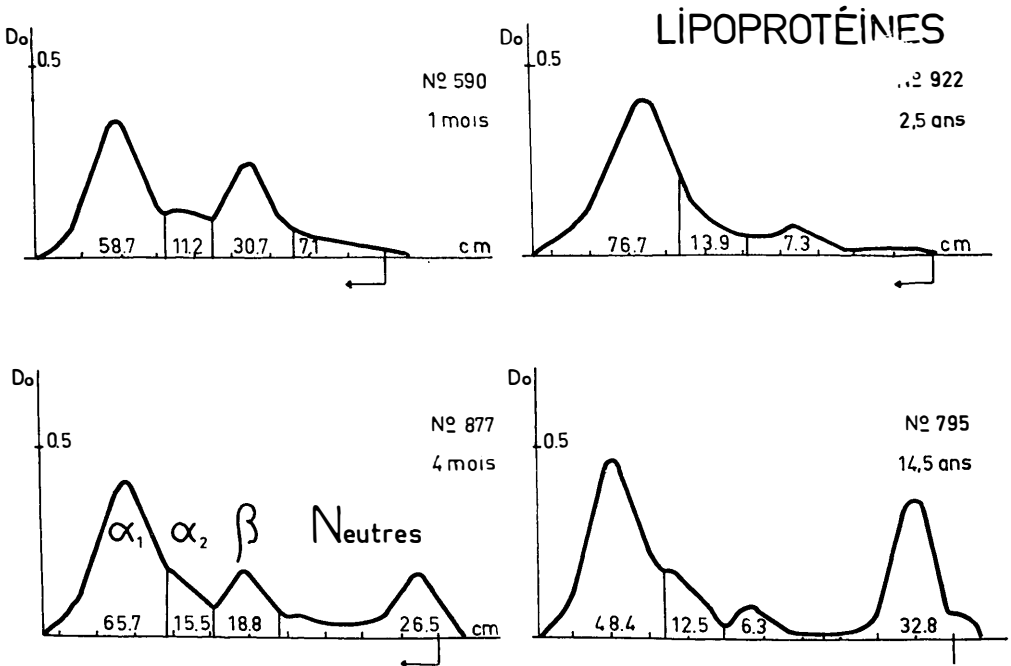


Fig. 3. — Lipoprotéines.

Augmentation des fractions rapides et diminution des fractions bêta avec l'âge. Fractions immobiles très nettes pour le n° 795.

après ingestion d'huile d'olive (10) les animaux, qui étaient à jeun depuis 20 heures ont présenté des fractions immobiles ou peu mobiles sans maximum net. Pendant l'absorption de corps gras les sérums de tous les animaux ont montré des fractions de ce type et un quart environ des sérums conservait cette modification 8 heures après l'ingestion.

Il s'agit probablement de chylomicrons et non de lipoprotéines, ce qui explique qu'ils restent sur la ligne de dépôt. On les rencontre chez des sujets dont l'absorption est retardée.

Le coefficient lipoprotéique, déterminé sur les mêmes sujets que le coefficient glycoprotéique, est de $96 \pm 5,8$ à un mois, $114,8 \pm 11,3$ de 4 à 12 mois et $88 \pm 12,7$ de 3 ans à 9 ans. Les variations portent surtout sur la fraction alpha.

Les écarts sont particulièrement importants pour le groupe de faible mobilité par suite des énormes variations des fractions immobiles.

BOSSAK, WANG et ADLERSBERG (3) ont trouvé une fraction alpha égale à 70 %, nos résultats sont répartis autour de ce taux sauf une valeur élevée pour les sujets de 1 à 2 ans et une plus basse pour les sujets de 1 mois. Par ailleurs ces auteurs ainsi que RUSS et RAYMUNT (16) ont mis en évidence la richesse du sérum de chien en phospholipides, localisés surtout dans les fractions alpha ; cette observation rejoint celle de SWAHN (17) qui a localisé la majeure partie des phospholipides dans la fraction alpha-1 chez l'homme. Nous n'avons pas pu prendre connaissance des travaux de FASOLI (5).

Influence du sexe

Elle paraît nulle sur les fractions protéiques et lipoprotéiques. Les glycoprotéines varient de façon contradictoire sauf les fractions gamma qui paraissent assez régulièrement inférieures chez la femelle.

RÉSUMÉS ET CONCLUSIONS

L'électrophorèse sur papier des sérums de 76 chiens âgés de 1 mois à 18 ans a montré :

1°) une augmentation avec l'âge de toutes les fractions protéiques, à l'exception de la fraction alpha-1 et la grande instabilité des protéines totales selon les sujets.

2°) la prépondérance des glycoprotéines du groupe alpha avec prédominance de la fraction alpha-1 chez le jeune et la fraction alpha-2 chez le sujet âgé, et une augmentation progressive du groupe bêta avec l'âge.

3°) la prédominance des lipoprotéines alpha-1 (moins marquée chez les sujets très jeunes), la diminution progressive des fractions alpha-2 et bêta avec l'âge et la présence d'une fraction de mobilité nulle d'importance très variable correspondant probablement à un retard d'absorption.

4°) des glycoprotéines gamma moins élevées chez la femelle, les autres fractions ne semblant pas subir de variations en corrélation avec le sexe.

Lors de toute étude pathologique il est donc important de se servir comme témoins normaux d'un lot de sujets sains du même âge.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANTWEILER. — Die Quantitative Elektrophorese in der Medizin. Springer, Berlin, 1952.
2. BOGUTH (W.) et RIECK (G. W.). — Papierelektrophoretische Untersuchungen von Blutserum bei der hyperplastischen Endometritis und Pyometra der Hunden. *Berl. Munch. Tierärztl. Wschr.*, 1953, 3-6.
3. BOSSAK (E. T.), WANG (C. I.) et ADLERSBERG (D.). — Comparative studies of lipoproteins in various species by paper electrophoresis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1954, 87, 637-643.
4. CHOPARD (P.). — Bestimmung der Eiweissfraktionen des Blutserums bei den Haustieren mit der Papierelektrophorese unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren. Thèse de Berne, 1954.
5. FASOLI (A.), MAGID (E. B.), GLASSMAN (M. D.) et FOA (P.P.). — *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1954, 85, 609-613.
6. GEINITZ. — Ueber serumeiveisse von tieren die häufig als Verseschstiere oder Zur Gewinnung von Heilseren dienen. *Klin Wschr.* 1954, 32, 1108-1111.
7. GRABAR et BURTIN (P.). — L'analyse immuno-électrophorétique, premiers résultats obtenus avec des sérums pathologiques. *Presse Med.*, 1955, 36, 804-805.
8. GROULADE (P.) et GROULADE (J.). — Etude par microélectrophorèse sur papier du sérum de chiens normaux et pathologiques. *Ann. Institut. Pasteur*, 1953, 85, 508-511.
9. GROULADE (P.), GROULADE (J.) et DRUFOVKA (B.). — Etude quantitative par micro-électrophorèse sur papier de sérums de chiens normaux et de sérums vieilliss... *Bull Acad. Vet. Fr.* 1954, 335-342.
10. GROULADE (J.), LEMARCHANDS (H.), PARAMELLE (B.). — Variations des lipides et lipoprotéines sériques du chien normal après ingestion d'huile d'olive. (*A paraître*).
11. GROULADE (J.) et GROULADE (P.). — Variations des protéines, glyco et lipoprotéines du sérum de chien normal selon l'âge (électrophorèse sur papier). *C.R. séances de l'Acad. Sciences*, 1956, 243, 611-612.
12. HERMAN (J. A.). — Analyse électrophorétique du plasma du chien normal. *Rev. Belge Path.*, 1955, 24, 224-229.
13. KOIW et GRONWALL. — Staining of protein bound carbohydrates after electrophoresis of sérum on filter paper. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 1952, 4, 244-246.
14. LEWIN (J.), GHATA (J.) et AZERAD (E.). — Protéines rapides du sérum normal. *Presse Med.* 1956, 64, 1433-1435.
15. PANISSET (R.). — Contrôle par l'électrophorèse des résultats obtenus à l'aide des méthodes de sérologie non spécifique. Thèse Lyon 1955.
16. RUSS (E. M.), RAYMUNT (J.). — Protein-lipids relationship in normal dog. plasma. *Circulation Research*, 1955, 3, 194-198.

17. SWAHN (B.). — Studies on blood lipids. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 1953, 5 suppl. 9, 1-114.
18. DE WAEL et TEUNISSEN (G. H. B.). — Onderzoek Van Bloedserum Van Normale en Zieke Honden met Behuls Van Papierelectrophorese. *T. Diergeneesk.*, 1954, 79, 447-454.

Discussion

M. LE PRÉSIDENT. — Je me plais à reconnaître la valeur considérable de ce travail. Il m'est arrivé récemment de faire de la bibliographie relativement à la teneur du chien en cholestérol et j'ai trouvé que la bibliographie vétérinaire était d'une pauvreté regrettable en la matière. Par conséquent, je ne peux qu'approuver cette étude extrêmement complète sur ces problèmes et souhaiter que les auteurs nous apportent les mêmes précisions en matière d'urée, en matière de glucose, en matière de cholestérol. Je crois que cela aurait énormément d'importance au point de vue de la médecine pratique canine.

Je me permettrai, cependant, de faire une réflexion, bien que les auteurs ne soient pas là. Il est regrettable que les tableaux manquent un peu de précision et, c'est la réflexion que vient de me communiquer M. JACOTOT, qu'on n'ait pas mis sur les graphiques protéiniques.

Et puis il y a un deuxième point, c'est que dans les analyses biologiques nous sommes habitués à tellement de variations dans la teneur du sang en élément quelconque qu'il serait bon, je crois, pour fixer l'objectivité de cette communication de donner les limites extrêmes par un pointillé sur les graphiques.

M. DRIEUX. — Monsieur le Président, il est extrêmement facile de répondre à votre désir très légitime et les auteurs se feront un devoir d'apporter à ces ces graphiques les compléments d'information que vous désirez.

M. DECHAMBRE. — Est-ce que l'alimentation pourrait faire varier les chiffres qui sont indiqués ?

M. DRIEUX. — L'alimentation pourrait les faire varier, étant donné que les protéines sanguines par exemple vont être modifiées selon que vous utiliserez tel ou tel aliment. Les auteurs font même allusion également à des mesures qui ont été faites en ce qui concerne les lipoprotéines chez des chiens nourris avec une quantité très importante d'une huile alimentaire. Il y avait alors des variations considérables. Par conséquent, la qualité de l'alimentation intervient aussi.

M. DECHAMBRE. — N'y aurait-il peut-être pas lieu de parler aussi des races ?

M. DRIEUX. — Les variations par race mériteraient peut-être d'être envisagées, mais, à priori, il ne semble pas qu'elles revêtent l'importance que l'on peut trouver dans des variations par espèce, bien entendu.

M. GUILLOT. — Je crois qu'il faut s'associer aux conclusions très prudentes des auteurs. Je ne parlerai que des mesures de protéine et je crois qu'effectivement, en dehors même des paramètres déjà signalés, en fonction de l'âge, en fonction de l'alimentation, il y en a d'autres auxquels il faut penser. Il y a certainement les races auxquelles vient de faire allusion M. DECHAMBRE, mais il y en a peut-être d'autres, comme l'influence de la saison. D'après

les constatations faites sur nos chiens militaires tout au moins, nous avons l'impression qu'il y a des variations saisonnières des protéinogrammes certaines. Un autre paramètre c'est le travail des animaux : le berger allemand qui est un chien d'une activité très grande et le chien de salon qui, au contraire, est couché sur son coussin, peuvent donner des protéinogrammes différents. Je crois que ce sont autant de facteurs à ajouter à ceux déjà envisagés par les auteurs, auxquels ils ont certainement pensé et peuvent faire l'objet de nouvelles recherches.

M. NICOL. — Il m'est agréable d'entendre le Général GUILLOT parler des variations saisonnières des protéines. Mais il y a des variations saisonnières non seulement des protéines banales, des protéines normales du sérum, mais également des variations saisonnières des protéines spécifiques, des anticorps. Nous avons sur ce point des chiffres qui résultent des observations datant maintenant d'une vingtaine d'années, et portent sur tous les animaux anti-tétaniques mis en immunisation à l'Institut Pasteur de Garches. Nous avons constaté qu'il y avait des variations saisonnières considérables. Nous assistons à une remontée des anticorps qui commence en général en mars et en avril et qui va jusqu'en juillet et août avec une baisse ensuite, puis une remontée. On retrouve ces remontées de l'immunité chez des sujets qui sont en immunisation depuis deux ou trois ans et qui chaque année, au printemps, sans aucune raison apparente, font une remontée nouvelle. Il y a des animaux qu'on pense mettre à la réforme au mois d'avril et que l'on garde parce qu'ils sont redevenus intéressants le mois suivant. Quelles en sont les raisons ? Nous n'avons jamais pu les établir. On avait pensé à l'alimentation, à l'action de certaines vitamines ; cette cause est à écarter car au moment où ces variations apparaissent, les animaux vivent encore sur des provisions de fourrage qui ont été faites l'année précédente. On a pensé, et là c'est peut-être plus plausible, à une action hormonale. Nous avons pensé également qu'il pouvait y avoir l'effet d'un allongement du jour ou d'une qualité de la lumière ; nous avons essayé sur une soixantaine de chevaux de prolonger l'éclaircissement à la lumière artificielle ou avec des lampes riches en rayons ultra-violet ; nous faisons cela jusqu'à 10 heures du soir et de bonne heure le matin ; jamais nous n'avons pu obtenir la reproduction de ce phénomène.

Enfin, nous avons pensé encore à la qualité de l'antigène et nous avons réservé pour la période d'hiver des antigènes préparés au printemps en pensant qu'à ce moment-là les chiens pouvaient apporter quelque chose de nouveau ; nous n'avons toujours pas pu reproduire le phénomène.

M. DRIEUX. — Dans la détermination de ce taux des anticorps, quelle méthode avez-vous adoptée ?

M. NICOL. — C'est par titrage classique. J'ai constaté aussi qu'il y a une variation considérable des globulines gamma avec l'âge, ce qui est tout à fait normal puisqu'un individu, au fur et à mesure qu'il avance en âge, acquiert des immunités naturelles de plus en plus nombreuses et par conséquent ses globulines gamma sont d'un taux plus élevé. Il y a également le facteur bêta-2 qui est très important dans l'immunité acquise et qui augmente lui aussi.

En somme le mystère reste entier malgré dix ans d'observations et de recherches. Nous n'en continuons pas moins à suivre le problème de très près.