

## COMMUNICATIONS

---

### Protéines et sérums (1)

par M. Maurice PIETTRE

---

Pour compléter la très intéressante communication de nos confrères, le Prof. J. BASSET et le D<sup>r</sup> R. PAILLE, sur les anticorps des sérums anti-rouget et anti-charbon symptomatique et pour répondre, tout en poursuivant patiemment nos travaux, à toute argumentation fantaisiste et d'ailleurs en dehors du sujet (*Académie vétérinaire*, octobre 1948), nous croyons utile d'exposer le plus brièvement possible dans ses grandes lignes, le problème des protéines sériques dans le sérum normal et les principaux immunisérums, renvoyant pour les détails à notre ouvrage : « La Biochimie des Protéines » (Lie, J.-B. Baillière, 1937). Il ne sera fait ici état ni d'opinions personnelles, ni d'argumentations spéciales, mais seulement d'expériences, de faits et d'analyses.

Ce problème très vaste, pour lui donner le maximum de clarté doit être examiné séparément sur le terrain de la Chimie et sur celui de la Thérapeutique.

I. Sur le plan de la Chimie, disons tout de suite que la méthode à l'*acétone aux basses températures* (2) n'a pas la prétention de redécouvrir les deux principales protéines, sérum globuline, sérum albumine. Ces substances ont été préparées depuis longtemps à l'aide de la vieille méthode aux sels diversement modifiée par des physiologistes et des chimistes de premier plan, HOFMEISTER, HAMMARSTEN, WURTZ, SCHUTZENBERGER, ARMAND GAUTHIER, etc.

---

(1) Maurice PIETTRE. — *Comptes rendus Académie des Sciences*, t. 226, p. 1817-1819, 1948.

(2) Aux basses températures les protéines ne subissent pas de *polymérisation*, donc pas de *dénaturation*. Cette donnée capitale a été établie en collaboration avec M. Maurice DOLADHILE, puis confirmée par des savants tels que SÖRENSEN à l'Institut Danois de Carlsberg, et surtout par A. BOUTARIC, à la Faculté des Sciences de Dijon, à l'aide de méthodes physicochimiques extrêmement sensibles (*Revue Scientifique*, déc. 1948, p. 734).

Par leur composition chimique et par leurs principales propriétés physiques ces protéines, et plus particulièrement le sérum albumine de SCHUTZENBERGER, s'identifient de très près avec celles obtenues par la méthode à l'acétone. Mais cette nouvelle technique permet de les séparer plus simplement, plus rapidement et dans un état de pureté beaucoup plus grande.

Les protéines préparées par la méthode aux sels y compris l'ovalbumine cristallisée de Sørensen contiennent toujours de notables quantités d'impuretés salines et notamment au moins 1 % de sulfate d'ammonium, impuretés qui dans les molécules colloïdales à poids moléculaire très élevé ne peut manquer de modifier dans des proportions très considérables leurs propriétés chimiques et physico-chimiques. Les protéines à l'acétone au contraire sont libres de tout électrolyte.

Voici d'ailleurs quelques données essentielles sur les deux protéines sériques.

**Sérum albumine** (bœuf). — Composition chimique élémentaire % :

$$\frac{C}{50} \quad \frac{H}{7,23} \quad \frac{N}{16} \quad \frac{S}{1,66} \quad CaO = 0,17$$

formule théorique, calculée pour S = 1 :  $(C^{80} H^{116} N^{22} O^{30})_n$ .

*Propriétés physiques.* — Solubles en toutes proportions dans l'eau en donnant des solutions d'une limpidité parfaite et par conséquent sans coefficient de sédimentation. Après concentration cristallise à basse température — acides à base étendus ne donnent aucune floculation.

Pouvoir rotatoire spécifique moyenne  $\alpha_D = -57^\circ$ . Les oxalates précipitent la chaux à froid, etc...

Charge électrique légèrement positive.

Réactions sériques, très faibles, le plus souvent nulles.

**Sérum globuline** (bœuf). — Composition chimique élémentaire % :

$$\frac{C}{50,6} \quad \frac{H}{7,2} \quad \frac{N}{14,68} \quad \frac{S}{0,97}$$

formule calculée pour S = 1 :  $(C^{140} H^{210} N^{35} S O^{55})_n$ .

*Propriétés physiques.* Insoluble dans l'eau. Dans les acides et bases étendus se gonfle, passe par un maximum de viscosité puis se disperse en donnant une solution opalescente. En présence de sels alcalins neutres se gonfle légèrement sans se dissoudre.

Charge électrique, négative.

Réactions sériques générales et locales toujours graves (*Acad. Médecine*, T. XCII, n° 35, oct. 1924).

On trouvera d'ailleurs, dans un très important article publié par la *Revue Scientifique* (p. 732 à 738, fasc. 12, décembre 1948), l'ensemble des recherches complémentaires physicochimiques effectuées au cours de ces quinze dernières années, à la Faculté des Sciences de Dijon, par notre très regretté collaborateur et ami, le Prof. A. BOUTARIC.

Il ne saurait donc y avoir de confusion pas plus d'ailleurs en ce qui concerne la nouvelle protéine sérique, la *myxoprotéine*.

La méthode de l'acétone apporte, en outre, de nombreuses et importantes notions nouvelles appelées à dominer certaines branches de la Physiologie, de la Pathologie, de la Physico-Chimie et de l'Immunologie.

1° Elle a permis d'isoler une troisième protéine, la *myxoprotéine* (1) qui représente la première étape de la synthèse protéinique et qui ne participe pas aux réactions de l'Immunologie. Elle est caractérisée par sa composition chimique inférieure de 3 % en carbone à celle des deux autres protéines et la propriété curieuse de se disperser dans les solutions étendues des sels alcalins neutres, notamment dans la solution physiologique de chlorure de sodium.

2° Elle a établi que dans le sérum, les trois protéines ne sont pas *libres*, mais *associées*, grâce aux lipides et aux bases alcalines, dans une *particule sérique*, de composition variable suivant les espèces, les familles, les individus. On rompt cette association par délipidation et saturation des bases à un pH voisin de 6, 4, etc...

3° Les protéines sériques n'ont pas de *pouvoir tampon* ; toutes les fonctions NH<sup>2</sup> et COOH sont bloquées par les liaisons peptidiques. Elles ne forment donc pas de combinaisons stœchiométriques avec les acides et les bases contrairement aux travaux du savant américain Jacques LÖEBE. Cette notion est d'une importance fondamentale en Biochimie et en Physiologie.

4° D'une façon générale, les divers processus pathologiques entraînent des modifications plus ou moins profondes de la composition chimique des sérums. Ces modifications portent plus

(1) L'analyse élémentaire donne % :

C	H	N	S <sup>1</sup>
46,65	7,1	14,3	1,05

Formule calculée pour S = 1 : (C<sup>115</sup> H<sup>20</sup> C N<sup>30</sup> S O<sup>56</sup>)<sub>n</sub>.

largement sur la myxoprotéine, mais affectent aussi la sérum globuline, moins souvent la sérum albumine (néphrose lipoïdique chez l'homme). Exceptionnellement dans la fièvre aphteuse, même en pleine période de crise thermique, la composition du sérum reste sensiblement normal ; nous avons appelé la fièvre aphteuse une *maladie de surface*.

5° Il a été démontré que les anticorps, dans les immunsérums, ne sont pas *libres*, mais intégrés dans les molécules, soit de la sérum globuline, soit de la sérum albumine. Voici les conclusions déjà précisées :

— Dans les sérums *antitoxiques* (diphthérie, tétanos), l'antitoxine est liée pour près de 80 % à la sérum albumine. Pour les sérums antiophidiques cependant, 60 % seulement se retrouvent dans cette protéine. Les recherches toutes récentes faites obligamment sur des protéines préparées par la méthode à l'acétone, chimiquement pures, sur la demande du Prof. J. BASSET, à l'Institut Pasteur de Garches, par le D<sup>r</sup> LEMÉTAYER avec la collaboration de M<sup>lle</sup> AMOUREUX ont confirmé ces résultats. Dans un sérum antidiphthérique titrant 550 unités, la sérum albumine contenait 450 unités, la sérum globuline 30 à 40 unités et la myxoprotéine 70.

— La réaction de Wasserman est obtenue exclusivement avec la globuline extraite des sérum de syphilis.

— Dans les sérums *précipitants*, la précipitine est localisée en totalité dans la globuline. L'albumine n'est ni antigénique, ni toxiques à aucun degré, ne provoquant ni chocs, ni accidents sériques notables.

— Dans les sérums *hémolytiques*, l'hémolysine est liée quantitativement à l'albumine, fait confirmé par M. PAIC. Le fractionnement par la chaleur et par l'acétone permet de concentrer l'anticorps dans les plus fines particules de la protéine.

— Dans les sérums *agglutinants* (paratyphique B), il y a, au début, partage de l'agglutinine, puis accumulation, dans l'albumine pendant les dernières phases de l'immunisation.

— Les *isoagglutinines* dans le sang des donneurs accompagnent la globuline (M<sup>lle</sup> Simone JACOB). Les immunisines antimorbilleuses (rougeole) sont liées surtout à l'albumine (D<sup>rs</sup> H. BONNET et Odette LEAU).

— En ce qui concerne les sérums *antitoxiques* (1) (rouget, charbon symptomatique) les recherches du Prof. BASSET et du

---

(1) M. PIETTRE. — Protéines et anticorps dans les sérums antimicrobiens. *Comptes rendus Acad. Sciences*, p. 1817, t. 226, 1948.

D<sup>r</sup> R. PAILLE, après celles que nous avons déjà publiées sur un sérum antiparatyphique B, ont donné :

antitoxines : 75 % dans la sérumalbumine (rouget et charbon) ;

agglutinines : 100 % dans la sérumalbumine (rouget) ;  
100 % dans la sérumglobuline (charbon antisymptomatique).

— Sur un premier hyperimmunsérum anti-aphteux préparé à l'Institut National de la Fièvre aphteuse, par son très actif Directeur, le D<sup>r</sup> H. GIRARD, le titrage des trois protéines séparées aurait montré que les anticorps se trouvaient localisés surtout dans la sérumglobuline. S'il se confirmait, ce résultat serait sans doute particulièrement intéressant pour l'étude de certains ultravirus.

Ces faits répétés maintes fois sur des immunsérums d'origine différente permettent donc de suivre les processus sériques en fonction des antigènes et des réactions des sujets en expérience et d'aborder de plus près l'étude des anticorps, problème impossible à résoudre avec les techniques classiques.

Le Professeur J. BASSET a montré l'importance théorique de ces recherches et les conséquences qui pourraient et devraient en être tirées dans la pratique tout au moins en ce qui concerne la sérothéorie humaine.

6° Enfin il a été établi que dans les protéines spécifiques, l'anticorps n'est pas *lié à la totalité de la protéine*. Dans un sérum agglutinant stabilisé (paratyphique B) les agglutinines étaient localisées dans les particules les plus petites de la sérumalbumine. Dans un sérum agglutinant (charbon symptomatique) au cours de l'immunisation, les agglutinines se trouvaient liées aux plus grosses particules de la sérumglobuline agglutinante. C'est là une indication précieuse pour l'étude des anticorps.

De tels résultats auraient pu et peuvent encore justifier la création à Paris, d'un grand Laboratoire des *Protéines* ouvrant ainsi un vaste champ à la Biologie Générale et une voie nouvelle à la Sérothérapie.

II. Dans le domaine de la Bactériologie et de la Sérothérapie, l'orientation des recherches s'est faite jusque là vers des buts pratiques, avec des techniques empiriques.

On s'est aperçu très vite que dans l'immunisation des animaux d'expérience plus de 50 % ne réagissaient pas et donnaient des

sérums insuffisamment actifs, d'où la nécessité de recourir à leur concentration. Dès 1909 GIBSON a utilisé, dans ce but, les solutions concentrées des divers sels neutres alcalins et plus spécialement le sulfate d'ammoniac.

Le fractionnement des protéines sériques a été limité à trois parties qui ont reçu les noms conventionnels suivants : 1<sup>re</sup> fraction (sulfate d'ammoniac à 1/3) ou Englobuline, 2<sup>e</sup> fraction (sel à la concentration 1/2) ou Pseudoglobuline, 3<sup>e</sup> fraction (sel à saturation) ou albumine. Seule la Pseudoglobuline, de beaucoup la plus importante en protéines et par suite la plus riche en anticorps liées à ces différentes substances, a été utilisée après diverses manipulations très longues et délicates : filtration, dialyse, redispersion, actions enzymatiques même dans certains Instituts.

Aucune spécification chimique, croyons-nous, n'a été donnée de ces trois fractions, seuls ont été vérifiés la présence et le titrage des anticorps.

Pendant notre séjour à Rio de Janeiro (1920-1924), nous avons procédé à l'Institut Sérothérapique Vital Brazil à l'étude chimique de la Pseudoglobuline des trois principaux sérums antitoxiques (antidiphthérique, antitétanique, antiphosphique) à l'aide de la méthode à l'acétone aux basses températures.

Les recherches publiées en 1922 dans les archives de l'Institut Vital Brazil, puis dans l'ouvrage *La Biochimie des Protéines*, ont abouti aux conclusions suivantes :

1° La Pseudoglobuline est un *mélange* des trois protéines, identités chimiques caractérisées par leur composition élémentaire et leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques, la sérumglobuline, la sérumalbumine et la myxoprotéine ; 2° d'une façon générale les trois protéines se retrouvent dans les mêmes proportions très voisines de celles du sérum, avec cependant, dans certains sérum, une prédominance de la sérumalbumine.

Depuis le terme Pseudoglobuline a disparu discrètement de la littérature étrangère, remplacé par celui de globuline sans justification chimique d'ailleurs.

De retour à Paris (1924) nous avons étudié la troisième fraction dite « albumine » au Laboratoire des Halles Centrales et montré (*Biochimie des Protéines*, p. 44) qu'elle était également un mélange, mais particulièrement riche en sérumalbumine.

Tout récemment et à notre demande, notre confrère le D<sup>r</sup> LEMÉ-

TAYER, directeur de l'Institut Pasteur de Garches, a bien voulu nous faire préparer la première fraction, Englobuline (sulfate d'ammoniac 1/3, plus exactement à 14 % de sel). Cette fraction, relativement très pauvre en extractif (0,813 gr. pour 100 du sérum initial), contenait également un mélange de globuline et de myxoprotéine qui n'ont pas été séparées, et de sérumalbumine authentique (10 % du sérum initial).

Enfin on sait depuis longtemps que les sels ne conduisent pas directement à la séparation de substances colloïdales mélangées et encore moins associées comme c'est le cas bien spécial pour les protéines sériques. Même lorsqu'il s'agit d'une seule protéine, les floculations salines représentent également des équilibres en fonction de la concentration de cette protéine. Nous venons de le vérifier avec une sérumalbumine chimiquement pure.

Dans une solution à 5 %, le sulfate d'ammoniac au 1/3 ne donne rien, à 50 % la floculation est presque complète ; au contraire à partir d'une solution à 7 % d'albumine, le sulfate d'ammoniac au 1/3 provoque déjà un commencement de floculation qui est complétée avec une solution saline à demi-saturation.

Une telle incertitude se retrouve bien entendu dans toutes les techniques purement physiques appliquées à l'étude de protéines sériques, à partir de la méthode aux sels. La technique bien connue du savant Professeur suédois Th. SWEDBERG, basée sur la *sédimentation* par ultra-centrifugation des différentes fractions protéiniques, ne saurait s'appliquer notamment à la sérumalbumine préparée par la méthode à l'acétone, car les solutions de celle-ci, d'une parfaite transparence, ne possèdent pas de coefficient de sédimentation. Le calcul du poids moléculaire ne peut donc être basé sur la sédimentation. Par ailleurs de sévères critiques ont été adressées à la technique de SWEDBERG par le Professeur Jacques DUCLAUX.

La technique élaborée récemment par un autre physicien suédois, Prof. TISÉLIUS, en utilisant l'*électrophorèse*, soulève de sérieuses réserves. D'une part, les premières recherches de M<sup>lle</sup> R. AYNARD, au Laboratoire de Physique de la Sorbonne, ont montré que l'électrophorèse d'un sérum préalablement délipoidé par la méthode à l'acétone, s'accompagne d'une modification très nette du diagramme électrophorétique : fusion des courbes des deux globulines dites  $\alpha$  et  $\beta$  et affaiblissement de la courbe de la variété  $\gamma$ . D'autre part TISÉLIUS lui-même a reconnu que l'albumine séparée par électrophorèse contient encore 25 % des glo-

bulines, résultat confirmé par Maurice DOLADHILE, puis par d'autres expérimentateurs.

Les appellations albumine, globulines  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  données aux maxima dans le diagramme électrophorétique du sérum entier ne représentent donc que des mélanges de protéines comme d'ailleurs l'admettent les savants américains, et notamment le Prof. Edwige COHN, de Boston. En fait l'étude toute récente non encore publiée de M<sup>lle</sup> AYNARD, des trois protéines préparées par la méthode à l'acétone, a montré que chacune avait un diagramme électrophorétique particulier (preuve de leur pureté). Ces données aideront déjà à mieux interpréter le diagramme du sérum entier. Mais le fond du problème reste toujours le même qui domine la physico-chimie du sérum sanguin et des humeurs dérivées : *les protéines ne sont pas libres, mais associées dans une particule sérique*, il faut d'abord les libérer par élimination des lipides et la saturation des alcalis absorbés, au pH 6,4 environ, pour pouvoir les séparer ensuite d'une façon satisfaisante par les méthodes physiques proposées jusque là ou toutes autres nouvelles.

Enfin la séparation des protéines par *relargage* à l'aide de sels concentrés, utilisé dans la fabrication des savons commerciaux, aurait conduit à séparer jusqu'à 23 variétés de globulines, dans des conditions d'ailleurs assez peu précises, alors que les auteurs américains n'admettent que les trois variétés  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ .

D'où la conclusion ferme donnée par DOLADHILE et LEGRAND, dans une récente note à l'Académie des Sciences (25 avril 1949), à savoir que « *toutes les méthodes de séparation des protéines par les méthodes physiques actuelles n'aboutissent qu'à des mélanges et non à des substances pures* ». C'est une confirmation des recherches chimiques que nous avons effectuées sur la Pseudoglobuline à Rio de Janeiro dès 1922, à l'Institut Vital Brazil.

### Conclusion.

La déplorable confusion qui règne en Biologie dans la nomenclature des protéines résulte donc de l'assimilation que l'on a cessé de faire entre les mélanges de protéines et les protéines pures telles qu'elles ont été préparées depuis longtemps par les chimistes et que la méthode à l'acétone permet si facilement d'obtenir.

Il sera possible d'apporter un minimum d'ordre et de s'entendre en prenant pour base la *composition chimique* et non les

seules propriétés physiques qui, on le sait, *ne suffisent pas à caractériser les substances colloïdales.*

Le grand principe qui domine toute la chimie moderne consiste à préparer des corps de plus en plus purs en remettant à l'honneur la « grille à analyses » de nos vieux Maîtres de la Chimie, délaissée pour des raisons de facilité.

Si l'on veut surtout entreprendre l'étude méthodique des anticorps vis-à-vis des antigènes et peut-être plus tard essayer de préparer artificiellement les anticorps, sans passer par l'intermédiaire, long, onéreux et incertain de l'organisme animal, il est logique de commencer par isoler, à l'état le plus pur possible, les protéines spécifiques. Dans cette voie jusque là pratiquement inaccessible, la méthode à l'acétone a apporté des données si nombreuses et si importantes qu'elle mériterait toute l'attention des chercheurs.

Il reste un terrain vierge, libre de toute compétition de tradition, d'écoles, d'intérêt même que la méthode à l'acétone a commencé à défricher, celui de la Physiologie générale et plus particulièrement de la Physiologie cellulaire. L'étude de la fonction de la cellule mammaire, plus spécialement, a permis d'aborder le difficile problème de la synthèse des substances protéiques, en montrant que la première protéine résultant de l'*activité trophique cellulaire* est bien la myxoprotéine. Cette nouvelle protéine semble devoir être considérée, suivant l'expression de Fred VLÈS, désormais comme une substance *stock*, dont procèdent les deux autres protéines, sérum globuline et sérum albumine, par un mécanisme qu'il importe d'étudier, si l'on veut expliquer l'équilibre protéinique du sang et des humeurs en général.

Ajoutons, pour terminer, que ces longues et difficiles recherches ont pu être menées à bonne fin grâce à l'emploi continu des basses températures (1) qui ont conduit, en même temps, à l'élaboration de plusieurs techniques aujourd'hui appliquées couramment en physico-chimie : la *Cryodesiccation* (sublimation des cristaux de glace) 1928, la *Cryoconcentration* (séparation de l'eau libre fractionnée ou continue dans les liquides biologiques) 1933-34, enfin la *Cryosédimentation* (annulation de l'agitation thermique dans les milieux liquides) des particules solides, des bactéries en particulier qui perdant leur mobilité, leur activité

---

(1) Nous rappellerons, à titre d'exemple, les grosses pertes constatées, chaque année, dans les sérums thérapeutiques conservés à la température ordinaire, résultant d'une diminution d'activité spécifique, de troubles ou même de dépôts que nous avons démontré être constitués par un mélange de protéines racémisées (64 %) et de savons calcaires (36 %). Conf., D<sup>r</sup> KOPACZEWSKI. — Le vieillissement du sérum. *Comptes rendus Acad. Sci.*, p. 1320, t. 226, 1948.

germinative et leur pouvoir fermentaire, tombent par gravité et peuvent être ainsi séparées aisément.

Aujourd'hui Instituts de Sérothérapie, Laboratoires de Biologie et même de Chimie, etc..., peuvent difficilement se passer de la technique frigorifique. (*Comptes rendus Acad. Sci.*, p. 1010, t. 224, 1947.)

### Discussion

M. E. LEMÉTAYER. — Nous sommes déjà intervenu sur ce sujet à la séance du 13 mai 1948 (*Bull. de l'Académie Vét.*, 1948, p. 188), lors de la discussion qui suivit la présentation de la note de M. le Professeur J. BASSET, intitulée « Anticorps et Protéine, leurs liaisons dans le sérum anti-rouget ».

Notre collègue de l'Institut Pasteur, M. le Docteur SANDOR, spécialiste de la chimie des anticorps et des antitoxines, est venu ici-même faire le point sur la nature chimique des anticorps, dans une communication intitulée « Anticorps et Protéides » (*Bull. Acad. Vét.*, 1948, p. 346).

D'après les données acceptées à l'heure actuelle par tous les immunochimistes du monde entier, on peut schématiser la question de la manière suivante :

Le sérum sanguin peut être considéré comme formé d'un mélange d'albumine et de globuline ; ce dernier protéide comprenant la pseudo-globuline et l'euglobuline. L'antitoxine est généralement pseudo-globulinique (ex-antitoxines diphtérique et tétanique préparées chez le cheval), alors que les anticorps microbiens sont généralement euglobuliniques. Mais ceci présente quelques exceptions, c'est ainsi que l'antitoxine diphtérique préparée chez la chèvre est euglobulinique et que l'anticorps typhique préparé chez le cheval serait pseudo-globulinique. *Dans aucun cas, ni l'antitoxine, ni les anticorps microbiens ne sont de nature albuminique*, ceci contrairement aux données de notre collègue M. PIETTRE.

A la suite de notre intervention du 13 mai 1948, M. PIETTRE nous a demandé de bien vouloir examiner les fractions protéidiques qu'il obtient par sa méthode à l'acétone. Nous lui avons envoyé, à sa demande, un échantillon de ce sérum antidiphtérique titrant 550 unités internationales ; quelques jours après, notre collègue nous a adressé trois produits secs obtenus par traitement de ce sérum par sa méthode à l'acétone :

un était étiqueté : albumine,  
l'autre : globuline,  
et le troisième : myxo-protéine.

Nous avons alors remis ces trois produits à notre collègue de l'Institut Pasteur à Garches, M<sup>lle</sup> AMOUREUX, Chef du laboratoire de la purification des sérums. M<sup>lle</sup> AMOUREUX, après avoir remis ces produits en solution suivant les indications données par M. PIETTRE, a traité ces trois produits (albumine Piettre, globuline Piettre, myxo-protéine Piettre) par le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation. Rappelons qu'à cette concentration, ce sel entraîne la précipitation de la globuline des sérums bruts. Nous avons alors procédé au titrage

*in vivo* et *in vitro* des précipités et des surnageants. Les résultats obtenus peuvent être ainsi résumés :

Albumine Piettre .....	}	Total .....	450 unités environ	
		Précipité .....	450 unités environ	
		Surnageant ...	— 10	
Globuline Piettre .....	}	Total .....	30	} surnageant
		Précipité .....	20	
		Surnageant ...	— 10	
Myxo-Protéine .....	}	Total .....	70	} surnageant
		Précipité .....	70	
		Surnageant ...	— 10	

Ainsi donc, ces trois fractions contiennent de l'antitoxine en quantités variables, la plus grande quantité étant fixée sur l'albumine Piettre. Cette antitoxine est toujours contenue dans le précipité obtenu par traitement au sulfate d'ammoniaque à demi-saturation, qui est par *définition de la globuline*.

Nous avons communiqué ces résultats à notre collègue M. PIETTRE, qui nous a répondu qu'ils sont conformes à ceux qu'il a obtenus il y a plus de vingt ans à l'Institut Vital Brazyl de Rio-de-Janeiro.

Etant donné que ces fractions Piettre ont peut-être été dénaturées par le traitement par l'acétone, on peut admettre qu'elles ne précipitent plus dans les mêmes conditions que les sérums bruts, mais il appartient à M. PIETTRE de faire la preuve par l'ultraconcentration et l'électrophorèse que ces fractions contenant l'antitoxine sont de nature albuminique et non globulinique.