

Note sur la recherche et le dosage de l'acide pyruvique dans les liquides biologiques

par J. BALIS

L'acide pyruvique est le point d'aboutissement de la première étape du cycle de KREBS, pendant laquelle le glucose ou certains autres oses tels que le fructose sont dégradés sans intervention de l'oxygène.

C'est donc un témoin du catabolisme glucidique, et il est important de pouvoir le caractériser et le doser dans un milieu biologique.

Nous inspirant de la méthode de CARON et RAQUET, nous avons mis au point une technique permettant non seulement la mise en évidence de l'acide pyruvique mais également son dosage, spécialement dans les milieux liquides à base de sang, que nous utilisons pour les essais de culture de *Trypanosoma evansi*.

Mise en évidence

On utilise la coloration que donne l'acide pyruvique avec le nitroprussiate de sodium et l'ammoniaque en présence de sulfate d'ammonium à saturation.

Généralement, les liquides à examiner doivent subir une défécation que l'on réalise par l'emploi du sulfate d'ammonium à saturation.

Dans la majorité des cas, on obtient après filtration un liquide absolument incolore.

Avec les milieux peptonés ou le bouillon nutritif, les résultats sont moins bons mais permettent, néanmoins de déceler l'acide pyruvique.

Nous avons adopté la technique suivante :

On ajoute à une prise de 5 ml, la quantité de sulfate d'ammonium nécessaire pour obtenir la saturation, soit 4 à 5 grammes.

Après une agitation de 3 à 4 minutes, au bout de laquelle doit persister un peu de sulfate non dissous, on filtre sur papier.

A 2 ml de liquide incolore recueilli, on ajoute dans l'ordre et en agitant après chaque opération :

— 4 gouttes de solution aqueuse récente de nitroprussiate de sodium à 10 p. 100.

— 1 ml d'ammoniaque officinal.

Si l'échantillon contient de l'acide pyruvique, on observe après quelques instants une coloration allant du vert clair au bleu foncé selon la concentration.

A 35°, la coloration atteint son maximum d'intensité en 6 à 8 minutes, reste relativement stable 10 à 12 minutes puis s'éclaircit progressivement. Ces valeurs sont à modifier en fonction de la température (voir tableau n° 1).

TABLEAU N° 1

Température	Lecture au bout de (en minutes)	Durée de stabilité (en minutes)
15°	24 à 32	40 à 48
25°	12 à 16	20 à 24
35°	6 à 8	10 à 12

Spécificité de la réaction : Elle n'est pas absolue puisqu'elle se produit également avec l'acide acétone-carboxylique et l'acide oxaloacétique, or, ce dernier est justement le point de départ de la seconde phase du cycle de KREBS.

Cette réserve étant faite, la réaction conserve une grande partie de sa valeur car elle permet au moins la mise en évidence d'une dégradation incomplète des glucides.

Dosage

Il est effectué en comparant la couleur obtenue, selon la technique que nous venons de décrire, à

TABLEAU N° 2

Tube N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Solution A (en ml).	6	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8	8,2	8,4	8,6	8,8	9	9,2	9,4	9,6	9,8	10
Solution B (en ml).	4	3,8	3,6	3,4	3,2	3	2,8	2,6	2,4	2,2	2	1,8	1,6	1,4	1,2	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Concentration du pyruvate (en mg par ml)	0,4	0,38	0,36	0,34	0,32	0,3	0,28	0,26	0,24	0,22	0,20	0,18	0,16	0,14	0,12	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0

celle d'une gamme étalon dont les concentrations vont de 0,02 mg à 0,4 mg de pyruvate de sodium par ml.

Cette gamme étalon est obtenue en mélangeant en proportions définies 2 solutions A et B (voir tableau n° 2) dont la composition est la suivante :

A : Sulfate d'ammonium à saturation dans l'eau distillée.

B : 100 ml de solution A + 100 mg de pyruvate de sodium.

Cette gamme peut se conserver au moins 2 mois en flacons bouchés dans un endroit frais. Le sulfate d'ammonium à saturation empêche la culture des germes autotrophes qui feraient disparaître le pyruvate de sodium en l'espace de 48 heures.

Sensibilité de la méthode

La méthode n'est valable que pour les quantités d'acide pyruvique allant de 0,02 mg par ml à 0,4 mg par ml.

En effet, on n'obtient une teinte verdâtre tranchant nettement avec celle du tube témoin sans pyruvate qu'à partir de 0,02 mg par ml ce qui correspond à une solution à 1 pour 50.000

Par contre pour une concentration supérieure, à 1 pour 2.500 soit 0,4 mg par ml il est difficile de

faire une évaluation, la coloration bleue étant trop intense.

Conclusion

La coloration que donne l'acide pyruvique avec le nitroprussiate de sodium et l'ammoniaque en présence de sulfate d'ammonium à saturation, permet une recherche et un dosage relativement faciles.

Compte tenu des réserves formulées à propos de la spécificité, cette méthode permet tout au moins de mettre en évidence une dégradation incomplète des glucides dans un milieu biologique.

- Laboratoire de recherches vétérinaire de Farcha — Fort-Lamy (Rép. du Tchad).
- Service d'entomo-protozoologie.

BIBLIOGRAPHIE

CARON (H.) et RAQUET (D.). — **Caractérisation et dosage de l'acide pyruvique. Application à la recherche de l'acide lactique.** *J. pharm. Chim (Paris)*, 1942, A. 2 : 333.

Note présentée à la séance du 5 novembre 1941 de la Société de Pharmacie de Paris.

SUMMARY

A note on research and the dosage of pyruvic acid in biological liquids.

The colouration given by pyruvic acid by the nitroprussiate of sodium and ammonia in the presence of a saturated solution of ammonium sulphate permits its detection and in relatively low titres.

Bearing in mind reservations regarding specificity, this method gives evidence to some degree of incomplete dissipation of glucides in a biological medium.

RESUMEN

Nota sobre la investigación y el dosaje del ácido pirúvico en los líquidos biológicos.

La coloración que da el ácido pirúvico con el nitroprusiato de sodio y el amoníaco en presencia de sulfato de amonio a saturación, permite una investigación y un dosaje relativamente fáciles.

Teniendo en cuenta las reservas formuladas a propósito de la especificidad, este método permite al menos poner en evidencia una degradación incompleta de los glucidos en un medio biológico.