

blancs et d'observer, à l'aide de la platine chauffante, l'état de leurs mouvements amiboïdes.

Elle permet encore de juger du degré d'adhérence que les hématies contractent entre elles.

Enfin elle est particulièrement précieuse pour la recherche des fragments mélaniques que charrie la circulation dans certains cas pathologiques ainsi que pour la recherche des gros parasites du sang.

Numération des éléments du sang. — Les éléments figurés que renferme le sang sont tellement nombreux que, pour les compter, il est nécessaire de le diluer. Le liquide employé devra réunir une double qualité : conserver les éléments, favoriser leur égale répartition. Vierordt, M. Potain, M. Malassez, M. Grancher et d'autres hématologues ont tour à tour imaginé des solutions de composition différente.

Pour la numération des hématies et des leucocytes, M. Hayem recommande le liquide suivant :

Eau distillée.	200	grammes
Chlorure de sodium.	1	gramme
Sulfate de soude.	5	grammes
Bichlorure d'hydrargyre.	0 ^r ,50	

Mais, dans cette solution, les hémato blasts se réunissent en masses mûri-formes, et il est impossible de les disperser. Pour les dénombrer, il faut recourir au sérum iodé, à l'urine de diabétique, ou au liquide amniotique de mouton.

Les instruments qui servent à la numération, les *hématimètres*, en un mot, sont plus ou moins compliqués. Les efforts des derniers inventeurs tendent à perfectionner la cellule de MM. Hayem et Nachet. Cette cellule, destinée à recevoir la solution sanguine, a une hauteur de 1/5 de millimètre. Un quadrillé placé dans l'oculaire du microscope (Hayem et Nachet), gravé au fond de la cellule (Gowers), ou inclus dans un dispositif spécial sous la platine du microscope (Nachet), permet de déterminer le nombre des globules qui occupent dans la cellule un carré de 1/5 de millimètre de côté. Comme la hauteur de celle-ci est, ainsi que nous l'avons dit, de 1/5 de millimètre, le quadrillé, en réalité, limite les globules contenus dans 1/5 de millimètre cube. Étant connu le titre de la solution sanguine, il est, dès lors, facile de faire les calculs qui conduisent à la notion du nombre des globules que renferme 1 millimètre cube de sang pur.

La numération des globules fournit, dans un grand nombre de cas, des renseignements de la plus haute importance. Mais, pour que ceux-ci aient une réelle valeur, il ne suffit point d'employer les liquides et les instruments appropriés, il convient encore de faire un court apprentissage hématimétrique.

La numération des diverses variétés de leucocytes réclame une technique particulière (Jolly). Elle doit être faite sur des préparations de sang sec fixées et colorées. On passe en revue 300 ou 400 leucocytes en prenant des points de repère pour éviter de cataloguer plusieurs fois les mêmes éléments. On peut ainsi prendre une notion assez rigoureuse de l'abondance relative des polynucléaires, ainsi que des grands et petits mononucléaires; mais, pour être fixé sur celle des éosinophiles, le dénombrement doit porter sur un nombre plus élevé d'éléments

RECHERCHE DE L'ÉTAT CHIMIQUE DU SANG

La connaissance des caractères chimiques du sang sera demandée à la chromométrie pratiquée en vue du dosage de l'hémoglobine et à l'examen spectroscopique du sang pur et du sérum. L'examen microscopique lui-même aura déjà donné des indications précieuses sur l'état chimique du sang et particulièrement sur la quantité de fibrine qu'il renferme. A la vérité, l'analyse chimique proprement dite conduirait à des notions beaucoup plus complètes; mais elle exige une quantité de sang que la piqûre du doigt est incapable de fournir.

Chromométrie et dosage de l'hémoglobine. — Le dosage de l'hémoglobine par les méthodes chromométriques est fondé sur le pouvoir colorant de cette substance et sur sa solubilité dans l'eau.

L'appareil chromométrique dont se sert M. Hayem est d'une grande simplicité; il consiste en un double réservoir de verre et en une échelle de rondelles de papier colorées. Les deux petits réservoirs étant remplis, l'un par une solution à titre connu du sang à essayer, l'autre d'eau pure, si au-dessous de ce dernier on fait passer successivement des rondelles colorées, de plus en plus foncées, il arrivera qu'à un moment une de ces rondelles possédera une coloration équivalente à celle de la solution sanguine. Chacune des teintes colorées représentant une solution de sang titré, dès qu'on aura trouvé la rondelle qui correspond le mieux au mélange sanguin, le dosage sera opéré.

La numération des globules rouges doit toujours être accompagnée par le dosage de l'hémoglobine. La chromométrie même, par l'importance des renseignements qu'elle fournit, a le pas sur l'hématimétrie. Mieux vaut connaître la quantité d'hémoglobine que renferme le sang d'un anémique que savoir le nombre de ses globules.

Lorsque la richesse de 1 millimètre cube de sang en hémoglobine est connue, il suffit de diviser le chiffre qui l'exprime par le nombre des hématies contenues dans 1 millimètre cube de sang pour connaître la valeur de chaque globule en hémoglobine. A l'état normal, la quantité d'hémoglobine contenue dans 1 millimètre cube de sang ou *richesse globulaire* est fictivement exprimée par 5 000 000, c'est-à-dire que R (richesse globulaire) = N (nombre des hématies). La quantité d'hémoglobine contenue dans chaque globule, la *valeur globulaire* équivaut ainsi à l'unité : G (valeur globulaire) = 1. Dans un grand nombre d'états morbides, le chiffre des hématies et la richesse globulaire faiblissent; le plus souvent la dépréciation de la richesse globulaire est plus accentuée que celle du nombre des hématies, si bien que la valeur globulaire tombe au-dessous de l'unité.

Analyse spectroscopique. — SANG PUR. — L'examen spectroscopique du sang peut être pratiqué avec un instrument simple à vision directe. Il doit porter sur le sang pur et sur le sang dilué. Pour examiner le sang pur, il faut choisir deux tubes à essai entrant à frottement l'un dans l'autre. Dans le plus grand on laisse tomber quelques gouttes de sang que l'introduction du second étale

en une mince couche. Pour examiner le sang dilué, il suffit d'opérer le mélange dans un tube à essai (Hayem).

On connaît le spectre d'absorption du sang, notamment les deux bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine qui se montrent entre les lignes D et E de Fraunhofer (fig. 4.₂). Dans l'asphyxie, le sang ne s'appauvrit pas en oxygène au point qu'à l'analyse spectrale on puisse constater la disparition des bandes

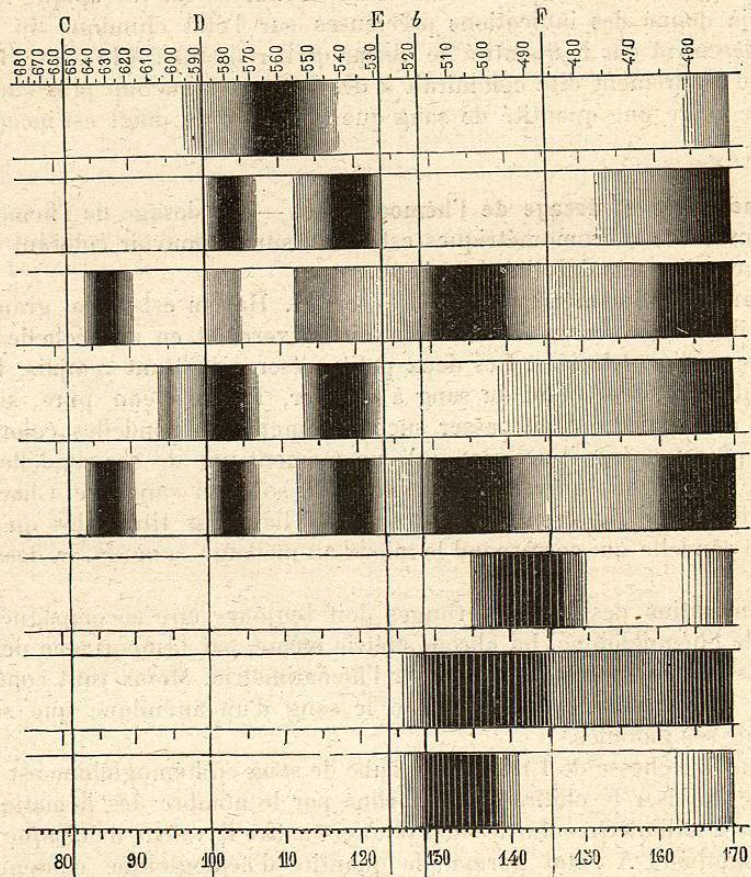


FIG. 4. — Analyse spectroscopique. (Figure empruntée au livre de M. Hayem.)

1, Spectre de l'hémoglobine réduite. 2, Spectre de l'oxyhémoglobine. 3, Spectre de la méthémoglobine en solution acide. 4, Spectre de la méthémoglobine en solution alcaline. 5, Spectre d'un mélange de méthémoglobine et d'oxyhémoglobine. 6, Spectre de l'urobiline dans l'urine acide. 7, Spectre des pigments biliaires dans l'urine. 8, Spectre de l'urobiline en solution dans l'urine traitée par le chlorure de zinc ammoniacal.

d'absorption de l'oxyhémoglobine. Mais en faisant agir sur le sang dilué un corps réducteur tel que le sulfhydrate d'ammoniaque, les deux bandes se fondent en une seule, par suite de l'obscurcissement de l'intervalle qui les sépare, et apparaît la bande unique de l'hémoglobine désoxygénée, dite bande de réduction de Stokes (fig. 4.₁).

Dans un certain nombre d'intoxications le spectre du sang est modifié.

Il faut particulièrement signaler le spectre fourni par l'hémoglobine oxycarbonée et par la méthémoglobine.

Les bandes d'absorption de l'hémoglobine oxycarbonée diffèrent des bandes de l'oxyhémoglobine en ce qu'elles sont légèrement déplacées vers le violet, et surtout en ce qu'elles résistent à l'action des agents réducteurs de l'oxyhémoglobine.

La méthémoglobine, composé oxygéné de l'hémoglobine, différant de l'oxyhémoglobine, stable et impropre à l'hématose, donne naissance en solution alcaline à trois bandes, l'une entre les raies C et D, les deux autres entre les raies D et E (fig. 4.₃); en solution acide et neutre, la méthémoglobine donne naissance à quatre bandes, l'une très apparente, entre les raies C et D, les trois autres dans les parties jaunes, vertes et bleues du spectre (fig. 4.₂). Après l'addition de sulfhydrate d'ammoniaque, le spectre de la méthémoglobine se change en celui de l'oxyhémoglobine, puis en celui de l'hémoglobine simple.

On conçoit l'importance de l'examen spectroscopique pour le diagnostic de l'intoxication par l'oxyde de carbone, et pour le diagnostic des intoxications qui donnent lieu à la formation de la méthémoglobine, telles que l'intoxication par le chlorate de potasse. Il faut savoir d'ailleurs qu'un grand nombre de substances données à dose médicamenteuse, le nitrite d'amyle, l'acétanilide, la lairine, le bleu de méthylène par exemple, font apparaître dans le sang la méthémoglobine.

SÉRUM. — Le spectroscope peut être utilisé, non seulement pour l'examen du sang en totalité, mais encore pour celui du sérum seul.

La simple piqûre d'une lancette permet de recueillir de 2 à 5 centimètres cubes de sang, c'est-à-dire une quantité de sang suffisante pour l'observation du sérum, à la condition que la main du patient ait été placée dans une position déclive pendant quelques instants, avant que la piqûre ait été faite à l'extrémité du doigt, et à la condition qu'après la piqûre l'issue du sang ait été facilitée par une sorte de massage pratiqué depuis la racine du doigt jusqu'au voisinage de la piqûre.

Recueilli dans une petite éprouvette d'une contenance de 5 centimètres cubes environ, le sang sera placé dans un endroit frais ou dans une glacière. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures le caillot sera rétracté, et le sérum bien séparé pourra être recueilli (Hayem).

Dans les conditions normales, le sérum renferme toujours une petite quantité d'oxyhémoglobine. Lorsque la proportion en devient notable, le fait doit être considéré comme ayant une signification pathologique. On dit alors qu'il y a hémoglobinémie. Il en est ainsi à la suite des transfusions, dans la plupart des maladies infectieuses et dans l'hémoglobinurie paroxystique. Sous l'influence de l'hémoglobinémie, le sérum prend une teinte qui va du jaune orangé clair jusqu'au rouge rubis, et à l'examen spectroscopique il fournit des bandes d'absorption d'une grande netteté.

Quelques auteurs ont admis que le sérum normal renferme également une petite quantité d'urobiline. Mais il n'en est rien, ainsi qu'on peut s'en assurer par l'étude du sérum frais. La présence de l'urobiline dans le sérum constitue un fait anormal qui découle, soit d'une destruction exagérée des hématies, soit le plus souvent de l'insuffisance fonctionnelle du foie. Dans la première alternative, le foie ne parvient pas à transformer la totalité de l'hémoglobine en bilirubine; une partie de l'hémoglobine subit une transformation moins avancée en demeurant à l'état d'urobiline. Dans la seconde alternative, le foie est insuffisant

à transformer l'hémoglobine en bilirubine; il la laisse à l'état d'urobiline. Ce pigment très diffusible passe immédiatement dans le sang et dans les humeurs, où il est aisément décelé par le spectroscope. En effet, dans un spectre dont la raie D correspond au n° 100 de l'échelle micrométrique, l'urobiline, en solution acide, fournit une bande d'absorption placée sur la limite gauche du bleu, à cheval sur 140, s'étendant de 135 à 140 (fig. 4.6) (Hayem).

Le sérum chargé d'urobiline peut devenir fluorescent, mais il conserve une teinte normale. Il n'en est pas de même lorsqu'il contient des pigments biliaires: il offre alors une teinte jaune verdâtre plus ou moins marquée, même alors qu'il ne donne pas la réaction de Gmelin. A l'examen spectroscopique, les pigments biliaires traduisent leur existence par l'extinction du violet et d'une partie ou de la totalité du bleu (fig. 4.7).

RECHERCHE DE L'ÉTAT BACTÉRIOLOGIQUE DU SANG

Trois opérations, l'examen histologique, la culture et l'inoculation aux animaux, conduisent à la connaissance du sang au point de vue bactériologique.

Le sang que l'on se propose d'étudier peut être recueilli dans les capillaires de la peau, dans les veines sous-cutanées ou dans les vaisseaux des organes profonds.

La prise du sang dans la peau réclame des soins tout particuliers. La pulpe du doigt choisi en vue de celle-ci, de préférence la pulpe de l'index, sera nettoyée avec de l'eau chaude, du savon et une brosse, lavée à l'alcool, désinfectée avec un tampon d'ouate hydrophile imbibé de sublimé en solution à 1/500 qui sera laissé en place pendant cinq minutes, lavée de nouveau avec de l'eau distillée stérilisée, séchée au moyen de papier buvard stérilisé, piquée enfin avec une lancette aseptique.

Pour recueillir le sang dans une veine sous-cutanée, on place tout d'abord une bande au-dessus du coude, comme dans l'opération de la saignée, on désinfecte la peau du pli du coude et, choisissant un vaisseau favorable, on y enfonce, en dirigeant la pointe vers la main, l'aiguille d'une seringue stérilisée. Lorsque celle-ci est remplie, la bande est enlevée, l'aiguille retirée et la petite plaie obturée au collodion.

La ponction veineuse est préférable à la piqûre de la peau, d'une part, parce qu'elle fournit une quantité de sang bien plus considérable, — et l'on sait aujourd'hui que le sang doit êtreensemencé largement en raison du très petit nombre de germes qu'il contient habituellement lorsqu'il est infecté, — d'autre part, parce qu'étant faite au niveau d'une région où la peau est fine et facile à désinfecter et permettant d'éviter la souillure du sang par l'air elle expose à de moindres causes d'erreur.

Parmi les organes profonds, le foie est celui qui se prête le mieux au recueil du sang. En dehors de certains états pathologiques, il en fournit abondamment et remplit la seringue presque aussi aisément que la ponction veineuse. Pour éviter toute souillure possible de l'aiguille et du sang par les germes de la peau, j'ai l'habitude de placer une pointe de feu là où elle sera perforée.

L'ensemencement et l'inoculation du sang doivent être pratiqués selon les

règles ordinaires. Ainsi que je l'ai déjà dit, ils doivent être faits largement.

Quant à l'examen histologique, il exige l'emploi de lames et lamelles soigneusement nettoyées et désinfectées. Il pourra porter sur le sang frais ou sur le sang desséché.

Les préparations fraîches conviennent à la recherche des grosses bactéries, telles que la bactériidie charbonneuse et mieux encore à la recherche des parasites de nature animale, tels que la filaire et l'hématozoaire du paludisme.

Les préparations sèches sont propices à la recherche des diverses espèces microbiennes. Les méthodes colorantes qu'emploie la bactériologie pour déceler la présence des micro-organismes dans les tissus ou dans les humeurs peuvent être appliquées sur le sang sec. Elles ont conduit, dans un certain nombre de cas, à des constatations positives.

Il est nécessaire toutefois de ne pas ignorer que l'étude des microbes dans le sang présente des difficultés particulières.

Si, en effet, il n'est pas possible de prendre pour des microcoques les granulations éosinophiles et neutrophiles, libres ou incluses dans des leucocytes, il n'en est pas de même des granulations basophiles, puisque celles-ci, comme les microbes, se caractérisent par une affinité toute particulière pour les couleurs basiques d'aniline, telles que la fuchsine, le violet de méthyle et de gentiane, la vésuvine, le bleu de méthylène et la safranine. On distinguera les granulations basophiles des microcoques en se fondant principalement sur leur coloration plus lente et sur leur décoloration plus facile, sur leurs limites moins nettes, sur leurs contours moins réguliers, et enfin sur l'inégalité de leur diamètre.