

« On prend à peu près 150 à 200 centigrammes de carmin très-fin et un nombre déterminé de gouttes d'une solution d'ammoniacale (nombre de gouttes qui peut être à volonté, plus ou moins grand), et environ 15 grammes d'eau distillée; on met le tout dans un mortier pour opérer la solution et broyer en même temps le carmin; puis on filtre, ce qui exige plusieurs heures, et occasionne, en conséquence, une volatilisation, une perte d'ammoniacale.

« On verse, en remuant lentement et sans cesse, la solution ammoniacale de carmin dans une solution de colle fine, filtrée et modérément chauffée. On ajoute à ce mélange, un peu chauffé au bain-marie, le nombre des gouttes nécessaire à la neutralisation de la solution ammoniacale, dont on s'est primitivement servi. On obtient par ce procédé un précipité de carmin dans une solution acide de colle. »

Thiersch a fait d'admirables injections connues de tous les anatomistes: voici son mode de préparation<sup>1</sup>. Le carmin pesé est mélangé à un poids égal d'ammoniacale et à trois parties d'eau distillée; on filtre et on ajoute le liquide obtenu à trois ou quatre parties d'une solution de gélatine (une partie de gélatine et deux parties d'eau distillée); on mêle à 25° R. On fait alors tomber goutte à goutte de l'acide acétique en agitant le mélange jusqu'à ce que l'odeur de l'ammoniacale cesse d'être perçue et qu'un papier de curcuma placé au-dessus ne brunisse plus.

#### Masses d'un rouge brun.

49. Le précipité de cyanoferrure de cuivre rappelle la couleur de l'acajou; cette substance, dont l'usage a été répandu par Th. Leber, donne de bons résultats; la teinte est loin d'être aussi belle que celle du carmin et la transparence est moins parfaite, mais elle pénètre bien et ne transsude pas. Voici comment on fera la préparation.

Prenez d'une part :

Solution concentrée de ferrocyanure de potassium. . .	20 centim. c.
Glycérine. . . . .	50

D'autre part :

Solution concentrée de sulfate de cuivre. . . . .	35 centim. c.
Glycérine. . . . .	50

<sup>1</sup> Thiersch, *Archiv für microscopische Anatomie*, von Max Schultze. 1865.

Mélez lentement en agitant. Au moment d'injecter, on ajoutera trois parties de véhicule pour une partie de ce mélange.

#### Masses bleues.

50. De toutes les préparations indiquées nous préférons celle de Beale, que nous donnons avec quelques modifications.

Prenez d'une part :

Solution de sulfocyanure de potassium. . . . .	90 centim. c.
Glycérine. . . . .	50

D'autre part :

Perchlorure de fer liquide à 50°. . . . .	5 centim. c.
Glycérine. . . . .	50

Mélez lentement et ajoutez trois parties de véhicule pour une de matière colorante. Les particules bleues que l'on produit ainsi sont extrêmement fines et restent en suspension. L'injection est très-transparente; elle a l'inconvénient de pâlir dans les liquides alcalins; il est donc prudent d'ajouter à la masse quelques gouttes d'acide chlorhydrique et de conserver les pièces injectées dans de l'alcool, auquel on mêle également un peu d'acide chlorhydrique.

Richardson remplace le perchlorure de fer par le sulfate de fer.

Le bleu de Prusse ordinaire possède la propriété de se dissoudre dans l'acide oxalique; on trouve cette dissolution dans le commerce, où elle est connue sous le nom de *bleu soluble*; en mêlant cette matière colorante à une solution de gélatine ou à la solution de glycérine, on obtient une masse à injection bleue qui a le mérite d'être vite préparée. Si l'on veut faire soi-même le bleu soluble, on cherchera à produire les réactions au milieu du véhicule. Voici la formule de Thiersch donnée par Frey :

« On prépare une solution froide saturée de protoxyde de fer (A), « une autre solution avec le cyanoferrure de potassium (B), et « une troisième solution d'acide oxalique (C). Enfin, il est nécessaire d'avoir une solution chaude de colle fine. On mêle, dans un vase de porcelaine, environ 15 grammes de solution de colle avec 6 centimètres cubes de la solution (A). Un deuxième vase, plus grand, recevra un mélange de 50 grammes de solution de colle et de 12 centimètres cubes de la solution (B); on y ajoutera plus tard encore 12 centimètres cubes de la solution d'acide oxalique (C). Quand le mélange, contenu dans les deux vases



« sera refroidi et marquera de 25 à 32° centigrades, on versera, goutte à goutte, et en remuant sans interruption, le contenu du premier vase dans le mélange du second. Lorsque le précipité sera complet, on chauffera pendant quelque temps en remuant sans cesse la masse d'un bleu foncé, jusqu'à 100° centigrades, puis on filtrera à l'aide d'une flanelle. Une matière à injection ainsi composée se conserve très-bien dans le baume de Canada. Il est facile d'en changer la couleur foncée en un bleu plus clair; il suffit pour cela d'ajouter quelque peu de solution de colle. »

*Masses jaunes.*

51. Nous obtenons avec le sulfure de cadmium une fort belle matière d'un jaune orangé, qui donne d'excellents résultats. Le précipité ne reste pas longtemps en suspension dans la glycérine, comme le font au contraire le précipité bleu ou le carmin, mais il suffit d'agiter le flacon pour disperser les molécules de sulfure de cadmium, qui ne se déposent ensuite qu'à la longue.

On prend d'une part :

Solution concentrée de sulfate de cadmium. . . . .	40 centim. c.
Glycérine. . . . .	50 —

D'autre part :

Solution concentrée de sulfure de sodium. . . . .	50 centim. c.
Glycérine. . . . .	50 —

On mêle les deux solutions en remuant constamment le liquide et on ajoute, comme pour les autres préparations, trois parties de véhicule pour une de matière colorante.

Une matière d'un jaune plus clair est obtenue à l'aide du chromate de plomb; cette injection, connue sous le nom d'injection jaune de Thiersch, est loin d'être préférable au sulfure de cadmium; le précipité est grenu et pesant; il gagne rapidement le fond du vase et donne au microscope une teinte peu intense et peu transparente. Cependant, tout en conseillant l'emploi du sulfure de cadmium, nous donnons la formule de Thiersch :

On mêle 20 centimètres cubes de solution concentrée de bichromate de potasse, avec 80 centimètres cubes de solution de gélatine. D'autre part, on ajoute 40 centimètres cubes de solution concentrée d'azotate de plomb, à 80 centimètres cubes de solution de gélatine. On réunit les deux mélanges maintenus à une douce température,

puis, lorsque le précipité est formé, ou chauffé à 100°; on peut remplacer la solution de colle par un mélange glycéro-salé.

*Masses vertes.*

52. On a recommandé, pour avoir la teinte verte, de réunir un mélange bleu à un mélange jaune; nous préférons nous servir du vert de Scheele obtenu de la façon suivante :

Prenez d'une part :

Solution concentrée d'arsénite de potasse. . . . .	80 centim. c.
Glycérine. . . . .	50 —

D'autre part :

Solution concentrée de sulfate de cuivre. . . . .	40 centim. c.
Glycérine. . . . .	50 —

Mélez et employez comme les matières colorantes qui précèdent. Les préparations injectées en vert ne sont pas aussi belles qu'avec les autres matières colorantes; non pas que la pénétration soit insuffisante, mais la teinte n'est pas assez tranchée et on est obligé de charger le véhicule d'une proportion assez considérable de matière colorante.

*Injections avec les couleurs dérivées de l'aniline.*

53. Les nuances si riches des couleurs fabriquées avec l'aniline sont difficilement employées pour les injections. Ces substances ont un défaut capital, c'est d'être solubles dans l'alcool, de sorte que les organes injectés ne peuvent être plongés dans ce liquide. De plus la fuchsine (matière colorante rouge) est soluble à la fois dans l'alcool, dans l'eau et dans la glycérine; il faut donc renoncer à l'employer avec la gélatine ou la glycérine. Le bleu, le violet, le jaune d'aniline peuvent être mêlés aux véhicules ordinaires après avoir été dissous dans une très-petite quantité d'alcool; injectés ainsi, ils infiltrent facilement les tissus et les pièces ne doivent pas être durcies ou conservées dans l'alcool qui s'emparerait de la matière colorante; on se servira de la glycérine comme moyen de conservation.

J'ai songé à unir le rouge (chlorhydrate de rosaniline), le bleu (chlorhydrate de rosaniline triphénilique), le violet (chlorhydrate de rosaniline triéthyliaque), ou le jaune (chrysaniline), à du colloïdion qui sert de véhicule. On obtient de la sorte des injections d'une homogénéité et d'une teinte admirables, et d'une transparence



parfaite; mais il est toujours impossible de les placer dans l'alcool; elles se conservent bien dans la glycérine; cependant le rouge finit par pâlir. En laissant sécher les tissus injectés ou les coupes (et la dessiccation se fait très-rapidement dans ce cas), il devient facile de faire des préparations dans le baume de Canada dissous par le chloroforme, car le chloroforme n'agit en aucune façon sur ces couleurs.

J'ai fait quelquefois avec ces injections de véritables préparations microscopiques de vaisseaux par corrosion. Il suffit de laisser les tissus injectés au collodion se décomposer lentement dans l'eau; on trouve au bout d'un temps variable la matière à injection qui seule ne s'est pas décomposée.

#### *Injections au collodion.*

54. Passons à l'indication du procédé: 5 grammes de fulmicoton sont placés dans un vase bien bouché avec 200 grammes d'éther sulfurique et 20 gouttes d'alcool. Il est important de mettre fort peu d'alcool et, si le fulmicoton se dissolvait dans l'éther employé, on n'ajouterait pas l'alcool qui facilite l'infiltration de la matière colorante dans les tissus. On ajoute au collodion 10 centigrammes de la couleur que l'on a d'abord dissoute dans quelques gouttes d'alcool pur; le bleu et le violet peuvent être ajoutés directement et sans addition d'alcool. On filtre rapidement à travers un linge placé dans un entonnoir que l'on recouvre d'une plaque de verre pour empêcher l'évaporation. La canule étant fixée et remplie d'éther sulfurique, on fait pénétrer l'injection à l'aide d'un instrument quelconque. Il suffit ensuite de laisser exposé à l'air l'organe injecté, la dessiccation s'opère rapidement. La peau, les muqueuses, les membranes minces sont étalées et desséchées sur une plaque de verre et traitées par le baume de Canada. Pour les muscles, le foie, les reins, etc., on pratiquera des coupes le lendemain de l'injection, on les placera sur une lame de verre où elles sécheront promptement et on les traitera de la même façon. Il est possible de conserver des coupes fraîches dans la glycérine, mais la couleur rouge disparaît alors peu à peu, la couleur bleue persiste indéfiniment.

Malgré leurs inconvénients, ces matières à injection peuvent rendre quelques services; elles sont difficiles à préparer, désagréables à employer; on réussit plus rarement avec elles, mais ceux qui aiment les belles injections tenteront l'emploi de ces riches couleurs.

#### *Injections blanches.*

55. C'est avec intention que nous n'avons rien dit des matières à injections blanches, qu'il faut abandonner lorsqu'ils s'agit d'injections transparentes; en effet, si l'on obtenait une matière colorante blanche et transparente, on ne pourrait pas la distinguer à la lumière réfléchie. Le carbonate de plomb, le chlorure d'argent ont été choisis par quelques anatomistes; nous aimerions mieux le sulfate de baryte indiqué par Frey et dont les particules sont très-fines; en outre, ce précipité ne se décompose pas aisément comme les deux premières substances, et, sans être transparent, il ne donne pas une masse complètement opaque; mais il est encore préférable de laisser de côté la couleur blanche, qui ne devient facilement apparente qu'à la condition de diminuer la transparence.

Nous rejetons également les injections brunes ou noires, qui sont toujours plus ou moins opaques; nous en avons essayé plusieurs espèces et les résultats obtenus ont été trop défectueux pour nous encourager dans ces tentatives; quant aux injections par double décomposition, il faut les proscrire; nous en dirons la raison plus loin.

#### *Injections au nitrate d'argent.*

56. La réaction du nitrate d'argent sur les éléments anatomiques sera étudiée dans un autre chapitre. Nous décrirons seulement ici le mode d'emploi de ce précieux réactif pour dévoiler l'épithélium qui tapisse divers canaux de l'économie. Lorsque ces canaux sont volumineux, ou lorsqu'il s'agit des séreuses, on peut les ouvrir et imprégner leur surface en les plongeant dans une solution argentine; mais pour les conduits plus petits, il faut nécessairement employer le procédé de l'injection.

Une simple solution aqueuse d'azotate d'argent, suffisante pour les réseaux lymphatiques, donne, pour les vaisseaux sanguins, les conduits glandulaires et les terminaisons bronchiques, des résultats incomplets; l'imprégnation existe dans tous les cas, mais les parois reviennent peu à peu sur elles-mêmes, se plissent, et les cellules épithéliales apparaissent confusément; il faut donc que les parois restent tendues.

On obtient ce résultat en mélangeant de la gélatine à la solution de nitrate d'argent. Mêlez dans un vase en porcelaine 50 grammes de gélatine et 550 grammes d'eau distillée; faites fondre la gélatine au bain-marie, puis ajoutez 100 grammes d'une solution de nitrate



d'argent au 100°. Le mélange est passé à travers une flanelle qui retient les impuretés; la matière à injection et l'organe dont on veut étudier les canaux sont maintenus à une température de 45°.

Quand on pousse le liquide avec une seringue, il est bon d'en avoir une spéciale en verre; car les instruments de cuivre décomposent la solution argentique; la seringue à crémaillère (fig. 1) est excellente pour cet usage; il est préférable du reste d'employer les appareils à pression continue. Dès que l'injection est terminée, ce que l'on reconnaît souvent à la teinte blanchâtre que prennent les tissus, on place la pièce dans un endroit obscur; évitez surtout de la plonger dans un liquide quelconque. Au bout de vingt-quatre heures, on l'exposera à la lumière et on commencera les préparations, ou bien on la placera dans l'alcool pour la durcir et pratiquer des coupes, qui ne prendront un bel aspect qu'après une exposition plus ou moins longue à la lumière.

Lorsque ces préparations doivent être conservées, elles seront plongées un instant dans une solution faible d'hyposulfite de soude dès qu'à l'air elles auront atteint la teinte voulue; on les fixe ainsi comme une épreuve de photographie. On les conservera ensuite dans la glycérine, ou bien, après les avoir de nouveau privées d'eau par l'alcool, on les traitera par le baume de Canada.

Quand l'opération est bien exécutée, on obtient d'admirables préparations; les contours des cellules épithéliales deviennent très-apparents et, s'il s'agit du système circulatoire lymphatique ou sanguin, les réseaux capillaires sont aussi nettement accusés qu'avec les matières colorantes transparentes.

C'est dans ces injections surtout qu'il est indispensable d'avoir des tissus très-frais; pour les vaisseaux et pour les terminaisons bronchiques ou mieux canalicules respirateurs, l'épithélium est souvent altéré quelques heures après la mort.

Il arrive parfois que la solution de nitrate d'argent ne borne pas son action à la surface et qu'elle agit plus profondément sur les éléments musculaires, sur ceux des vaisseaux, par exemple; les fibres cellulaires deviennent alors apparentes et les éléments épithéliaux sont plus ou moins masqués. C'est surtout quand l'épithélium est déjà légèrement altéré que cet inconvénient se présente. On peut, dans certains cas, utiliser cet accident; ainsi, c'est le meilleur moyen de constater la présence de l'épithélium qui tapisse les glomérules de Malpighi du rein; une injection de nitrate d'argent poussée par l'artère rénale ne tarde pas à imbiber ces glomérules.

Pour les conduits glandulaires, les terminaisons bronchiques et surtout pour les lymphatiques et les vaisseaux sanguins, les injections au nitrate d'argent sont d'une grande utilité.

*Injections conservatrices et durcissantes.*

57. Certaines injections n'ont point pour but de rendre les vaisseaux plus apparents et sont destinées à agir sur les tissus par imbibition; il n'est pas question ici de celles qui servent à la conservation par embaumement, mais d'un procédé utile à connaître pour les recherches d'anatomie générale. On n'ignore pas les difficultés qu'on éprouve à durcir convenablement quelques organes, la moelle épinière et le cerveau, par exemple, surtout lorsqu'on fait usage de l'acide chromique ou de chromate de potasse; le durcissement s'effectue à la surface pendant que le centre se ramollit et s'altère. On évite cet inconvénient en injectant préalablement une solution d'acide chromique ou de chromate de potasse, soit par l'aorte, s'il s'agit d'un petit animal, soit par un vaisseau principal de l'organe que l'on désire employer; le liquide s'infiltré peu à peu dans les tissus, le vaisseau est lié, et après une demi-heure l'organe que l'on veut conserver est enlevé et placé dans une solution semblable à celle qui a servi pour l'injection.

*Conservation des masses à injections.*

58. En suivant la méthode générale que nous indiquons pour la préparation des matières à injection, c'est-à-dire en opérant le précipité dans la glycérine, les particules sont plus fines et mieux isolées; on a, en outre, l'avantage de conserver les substances colorantes préparées; il ne reste plus qu'à les mélanger avec une quantité déterminée de véhicule au moment de s'en servir.

Ces matières colorantes s'associent également bien à la solution chaude de gélatine ou à la solution froide de glycérine.

Si l'on désire conserver des mélanges prêts à être injectés, rien n'est plus facile avec le mélange de glycérine, eau et alcool; il suffit d'avoir la précaution de fermer hermétiquement le flacon afin d'empêcher l'évaporation de l'alcool. Pour les masses à base de gélatine, on joindra les substances colorantes en suspension dans la glycérine à la solution de gélatine arsenicale que nous avons indiquée plus haut (pages 51-52).

On conserve ainsi une collection de teintes variées qui suffisent dans tous les cas. Qu'il s'agisse, par exemple, d'injecter les pou-



mons, on poussera dans les artères bronchiques la masse rouge au carmin, dans l'artère pulmonaire la masse rouge brun au sulfocyanure de cuivre, dans les veines pulmonaire la masse bleue, dans les bronches la masse jaune, et il restera pour les lymphatiques le choix entre l'injection au nitrate d'argent ou au vert de Scheele, ou bien encore aux mélanges opaques. Nous ne conseillons guère l'emploi des nuances qui résultent du mélange des couleurs, le violet, par exemple; on possède assez de teintes tranchées pour n'être pas obligé de recourir à ces moyens.

Ajoutons qu'il est prudent, avant de se servir d'une matière à injection transparente, de la passer à travers une flanelle grossière, surtout pour les mélanges rouge-brun, jaune et vert.

La conservation facile des matières colorantes toutes préparées et des véhicules permet de faire les injections transparentes avec autant de promptitude et de commodité que les injections opaques aux vernis ou à l'essence de térébenthine.

*Injections sur les animaux vivants.*

59. Nous devons indiquer ici un procédé ingénieux, qui consiste à retirer par une veine d'un animal vivant une certaine quantité de sang, que l'on remplace par une solution étendue de carminate d'ammoniaque, ou une solution de sulfate de soude colorée par l'indigo; la matière colorante se mêle au sang qui ne cesse pas de circuler, et il suffit de placer des ligatures sur les veines d'un organe, ou à la racine d'un membre, pour obtenir les réseaux vasculaires pleins de sang coloré. L'auteur de ce procédé, Chrzonczewsky, ajoute que certains tissus, certaines glandes s'imprègnent de la substance colorante, les tubes du rein s'emparant du carmin, les conduits biliaires de l'indigo, etc., et c'est là précisément à notre avis le principal reproche que l'on doit lui faire. Cette imbibition facile des tissus est fâcheuse et l'injection manque de netteté; en outre, les capillaires, remplis de globules colorés, sont loin d'avoir la transparence et la beauté de ceux que l'on remplit avec des injections ordinaires. Nous pensons donc que ce moyen ne doit pas être employé pour l'étude des vaisseaux.

60. Nous avons tenté, non plus seulement de colorer le sang, mais de le remplacer sur le vivant par une matière à injection poussée dans les veines. Voici comment nous procédions: une canule était placée dans une veine jugulaire du côté droit, par exemple, et dirigée du côté du cœur; la veine jugulaire de l'autre

côté était ouverte, on laissait le sang s'écouler en partie et on poussait dans la canule une solution claire de gélatine, colorée par le carmin ou le bleu soluble (voy. p. 55); la matière arrivait au cœur qui la chassait, mais les capillaires du poumon retenaient une grande partie de l'injection; il passait peu de chose dans le cœur gauche, et la matière colorante était toujours mêlée avec du sang, qui lui donnait un fâcheux aspect.

61. Il est un moyen excellent d'injecter l'animal vivant, c'est celui que nous avons employé avec M. Onimus<sup>1</sup>.

« Sur un lapin, on ouvre l'abdomen; on lie l'aorte au-dessus des artères rénales et l'on introduit au-dessous une canule, communiquant, au moyen d'un tube de caoutchouc, avec un entonnoir de verre dans lequel on verse du lait chauffé à environ 50°. Le niveau du lait se trouve à deux décimètres au-dessus de l'aorte. On coupe en même temps la veine iliaque. Au bout de deux minutes, on voit le sang qui s'écoule par les veines mélangé avec du lait. Le lendemain, au microscope, on constate que toutes les parties du corps, situées au-dessous de la ligature de l'aorte, sont complètement exsangues, et que les capillaires sont remplis de gouttelettes de lait. »

Nous avons d'abord choisi le lait, pour exciter le moins possible la contracture des vaisseaux; mais on obtient le même résultat, en ne se servant que de pressions insignifiantes, avec une solution de gélatine colorée par le carmin précipité; mais il faut éviter la glycérine et toutes les substances qui agiraient sur la contractilité vasculaire; cette recommandation s'applique, du reste, également aux injections pratiquées sur des animaux récemment sacrifiés. Si l'on emploie ce procédé pour remplir les vaisseaux de tout l'animal, on ouvre le thorax avec précaution, en rasant le sternum; une ligature est placée à l'origine de l'aorte, une pince à pression continue un peu plus loin et la canule est fixée entre la ligature et la pince; puis, le ventricule droit est ouvert et on laisse couler l'injection; il faut seulement se hâter pour profiter des avantages qu'offre l'animal vivant. Nous pensons que les heureux résultats que l'on obtient ainsi sont dus à deux causes: l'absence de sang coagulé et la persistance de la contractilité artérielle, qui chasse la matière liquide dans les capillaires et les veines.

<sup>1</sup> Legros et Onimus, *Recherches expérimentales sur la circulation* (Journal d'anatomie et de physiologie, juillet et août 1868).