

CHAPITRE II

Des agents chimiques employés pour l'étude des objets microscopiques¹.

366. Le biologiste peut disposer comme d'une faculté nouvelle de l'ensemble des procédés chimiques pour perfectionner ses recherches sur les organismes et leurs parties, ainsi que sur les actes qu'ils accomplissent. Ils constituent un ordre de ressources d'une importance des plus grandes, en raison de ce que l'emploi des moyens qu'ils nous fournissent nous conduit plus près de la nature propre des phénomènes fondamentaux dont la substance organisée est le siège.

L'importance directe des moyens d'observation, mais surtout la valeur logique de la connaissance de chacun des ordres de caractères qu'ils nous dévoilent, vont en augmentant à mesure qu'on approche davantage de ceux qui sont d'ordre chimique, c'est-à-dire des réactions décelant les analogies et les différences de la composition immédiate de chaque espèce d'élément anatomique et d'humeur. La raison de ce fait est que la connaissance de ces données nous place plus près des conditions moléculaires d'accomplissement des actions exercées par les parties étudiées. Elle nous conduit plus près des notions relatives à leur état d'organisation, c'est-à-dire des conditions les plus directes de leur activité organique. Il y a donc dans l'étude des réactions et des autres caractères d'ordre chimique des éléments anatomiques, des humeurs comme des tissus, une question de méthode qui nous donne la raison scientifique de ce qui rend leur connaissance plus importante encore que celle des caractères physiques, ou de ceux de configuration et de volume, lorsqu'il s'agit de distinguer les éléments anatomiques d'une espèce de ceux d'une autre espèce. C'est ainsi, par exemple, que deux éléments de même forme, de même volume, de même consistance, etc., ne peuvent être considérés comme de même espèce s'ils réagissent différemment. Sous ce rapport, leur emploi est des plus précieux pour éviter de tomber dans les erreurs de fait et d'interprétations, des plus singulières souvent, qui remplissent la

¹ Par MM. Grandry (de Liège) et Ch. Robin.

plupart des travaux de ceux qui se bornent à la facile étude de la texture, sans connaître préalablement les éléments anatomiques composant le tissu, par leur réunion dans un ordre qui est nécessairement subordonné à leur nature.

L'anatomie, ainsi que la physiologie normale et pathologique, dans nombre de leurs recherches, mettent en usage de diverses manières les procédés chimiques pour distinguer sous le microscope les éléments anatomiques les uns des autres et les humeurs, pour déceler l'arrangement réciproque des parties élémentaires composant les tissus, etc.

L'emploi méthodique de ces moyens repose entièrement sur la connaissance des lois de la combinaison et de la décomposition des corps, d'une part, et, de l'autre, sur celle des propriétés chimiques des principes immédiats constituant la substance des éléments anatomiques et des humeurs observées. En raison de la nature de ces principes et par suite de celle de la substance qu'ils forment, on observe dans l'usage des moyens chimiques en biologie de nombreuses particularités qui sont propres à cette science.

Les agents chimiques sont colorants, dissolvants, coagulants, durcissants, antiputrides, etc., tantôt ils sont employés dans le but d'obtenir un résultat immédiat, ou bien ils sont seulement destinés à rendre possible l'examen microscopique et même les dissections proprement dites, ou, enfin, la conservation des tissus, des organes et des individus entiers. Ces divers composés peuvent non-seulement être empruntés à ceux que fournit la chimie, mais encore à l'économie animale même; tels sont le suc gastrique, la bile, parfois utilisés comme dissolvants de certains éléments anatomiques ou comme principes colorants.

En physiologie, l'emploi des moyens chimiques, en tant que destinés à faciliter l'observation directe des phénomènes, ne comporte pas une aussi grande extension qu'en anatomie, mais l'importance des résultats obtenus, quant à la détermination de la nature des actes d'ordre organique, n'est pas moins grande, en ce qui concerne tous les phénomènes digestifs, les sécrétions, etc.

367. Quelles que soient les variétés de forme et de volume que puissent présenter les divers individus d'une même espèce d'éléments anatomiques, au point de vue de l'ensemble de leurs caractères extérieurs, les phénomènes qu'ils offrent au contact des

réactifs et leur composition immédiate sont les mêmes dans toutes les parties du corps sur les animaux vertébrés, et même chez tous les invertébrés dont l'organisme est encore séparable en un certain nombre d'éléments. Aussi la constance et l'uniformité des caractères chimiques sont bien plus grandes que celles des caractères physiques, et la distinction des éléments anatomiques en plusieurs espèces n'est pas basée seulement sur l'examen des caractères physiques. La connaissance de l'action des composés chimiques est donc très-utile sous ce rapport, sans parler des si nombreuses circonstances dans lesquelles on se sert de ces matières pour dissoudre les éléments qui nuisent à l'observation d'autres espèces, ou pour colorer et rendre facilement visibles ceux qui sont trop pâles, durcir les tissus qui sont trop mous pour être convenablement tranchés en coupes minces, ramollir ceux qui sont trop durs, pour constater le mode d'entre-croisement, ou la quantité relative de certains éléments dans un tissu, etc., pour rendre transparents divers tissus d'un organe, pour voir la forme, le volume et les rapports intimes d'autres parties de ce dernier qui restent ou deviennent moins translucides, etc., etc.

Ajoutons qu'on ne peut être sûr de l'action réellement dissolvante d'un acide, par exemple, qu'autant qu'après l'avoir fait agir on le sature à l'aide d'une base, ou réciproquement s'il s'agit d'un alcali. C'est ainsi que l'acide acétique, qui rend transparents et homogènes les tissus lamineux et fibreux qu'il gonfle au point de sembler les dissoudre sous le microscope, laisse réapparaître leurs caractères quand on le sature par la soude ou l'ammoniaque.

568. Ce que nous avons dit en commençant montre qu'on ne peut classer rigoureusement les agents chimiques d'après leur inertie relative, la nature de leur action dissolvante, tuméfiante, durcissante, colorante, etc. Cette action est, en effet, pour chaque composé, subordonnée à la composition immédiate de l'élément, de telle sorte que tel réactif qui dissout ou rend transparent un élément, un tissu ou un être microscopique, durcit ou rend opaque un autre de ces corps.

Il est cependant possible de donner un exposé succinct des propriétés de bien des composés chimiques, permettant de se faire une idée nette de l'utilité des réactifs en histologie. Remarquons de suite qu'une même substance peut avoir des propriétés radicalement opposées, suivant son mode d'emploi.

569. Les réactifs peuvent être *inoffensifs*, c'est-à-dire qu'ils peuvent maintenir les éléments dans leur état d'intégrité parfaite, tels sont quelques sérosités, l'iodosérum, l'eau albumineuse, etc.

Les réactifs peuvent servir à isoler les éléments; ils sont alors dits *isolants*. Cette manière d'agir est parfois désignée sous le nom de macération; elle varie suivant la composition des substances elles-mêmes. Il peut y avoir une véritable dissociation des particules, comme, par exemple, dans le cas de l'acide chromique faible agissant sur les éléments nerveux; il est au contraire des substances qui détruisent certains éléments pour en laisser voir nettement d'autres, c'est le cas de l'acide acétique, agissant sur le tissu lamineux, et mettant en évidence ses fibres élastiques.

Une autre propriété dont jouissent certains réactifs, est la *propriété altérante*. Ils sont dits *altérants* quand ils produisent des modifications profondes sur les éléments ou les tissus. Ici, comme dans toutes les propriétés des réactifs, on doit différencier les substances suivant leur mode réel d'action. Ainsi, l'altération peut être passagère, comme c'est le cas pour l'acide acétique qui fait disparaître les fibrilles lamineuses, fibres qu'on peut ensuite faire réparaître; mais elle peut être permanente lorsque les réactifs ont amené la destruction complète de l'un des éléments d'un tissu.

Les réactifs peuvent être *colorants*, et cela de diverses façons; il peut y avoir imbibition simple ou combinaison avec le tissu lui-même, et, en outre, il peut y avoir déposition de substances colorantes dans l'élément lui-même, comme on le voit pour les sels d'argent.

570. On distingue également les réactifs *durcissants*. Ici également le mode d'action est variable suivant la nature des composés et des moyens physiques employés. Ainsi, l'acide chromique durcit en se combinant aux éléments, la coction en les coagulant et les gonflant, l'alcool en déshydratant et coagulant.

Il faut dans l'emploi des agents durcissants tenir compte d'autre part de la nature des principes immédiats coagulables concourant à constituer la substance même des éléments anatomiques prédominant dans chaque tissu. C'est ainsi que la coagulabilité depuis si longtemps reconnue des principes constitutifs des œufs d'oiseaux, de reptiles, de poissons, d'insectes, d'araignées, de crustacés, et autres invertébrés permet d'employer un grand nombre de moyens pour les durcir et en faire des coupes minces destinées à voir les relations réciproques des membranes et autres organes aux diverses

phases de l'évolution embryonnaire et fœtale. L'eau bouillante, l'alcool pur ou étendu acidulé ou non, les acides azotique, sulfurique, chlorhydrique, oxalique, chromique, le chromate de potasse, les essences de térébenthine, de citron les solutions de sels de fer et de cuivre, étendues ou non d'alcool ont successivement été employées dans ce but et peuvent l'être avec avantage dans tel ou tel cas donné que l'expérience apprend à déterminer.

Disons déjà que le séjour pendant quelques heures ou quelques jours dans l'alcool, les solutions faibles d'acide chromique, de chromate de potasse dont il sera question plus loin, sont avec les essences les agents durcissants qui réussissent le mieux sur les ovules et les embryons, qu'ils durcissent sans rendre les parties trop cassantes ou trop opaques en raison de l'état grenu des éléments que cause la coagulation.

371. L'action coagulante qui appartient à un grand nombre des réactifs a jusqu'à présent été trop peu étudiée.

Nous signalerons qu'il faut dans les actions coagulantes de divers composés chimiques employés en micrographie distinguer :

1° L'action sur l'élément vivant.

2° L'action sur l'élément mort, c'est-à-dire ayant déjà subi la coagulation cadavérique. Cette distinction est importante dans l'emploi du nitrate argentique, par exemple, pour étudier les épithéliums délicats et le cylindre-axe.

Notons enfin qu'on obtient les principales formes de la coagulation :

A. Par la coction;

B. Par l'action des acides minéraux concentrés, azotique, sulfurique, etc.; dilués, ils n'ont pas la même action;

C. Par leur combinaison avec la substance des éléments; acide chromique concentré, etc.;

D. Quelquefois enfin on obtient la coagulation par la déshydratation des tissus.

Nous résumerons dans le tableau ci-contre les données générales qui viennent d'être exposées, en énumérant les principaux réactifs déterminant les actions ci-dessus indiquées. Nous ferons remarquer enfin qu'un grand nombre d'autres composés auraient pu être encore signalés, et que ce tableau signale seulement les substances les plus fréquemment employées.

TABLEAU DE L'EMPLOI DES RÉACTIFS.

ISOLEMENT DES ÉLÉMENTS :	
<i>Solution de bichromate potassique faible, acide chromique faible, liqueur de Müller.</i>	Épithéliums délicats, centres nerveux, terminaisons nerveuses et en général presque toutes les macérations.
<i>Acide acétique faible.</i>	Terminaison des nerfs dans les muscles, dans la peau, et, en général chaque fois qu'on veut se débarrasser du tissu lamineux.
<i>Acide chlorhydrique faible.</i>	Nerfs des muscles, etc.
<i>Acide nitrique au 5.</i>	Muscles lisses, etc.
<i>Potasse.</i>	Beaucoup d'éléments surtout employée dans l'étude des terminaisons nerveuses. Solution concentrée; cellules de l'ongle.
<i>Acide sulfurique concentré.</i>	Éléments des poils.
<i>Iodserum.</i>	On doit l'employer chaque fois qu'on veut faire macérer dans un liquide inoffensif et surtout pour les éléments nerveux.
<i>Acide tartrique.</i>	Tissus glandulaires.
COLORATION DES ÉLÉMENTS :	
<i>Acide chromique.</i>	} Presque tous les tissus excepté la graisse, soit qu'on s'en serve comme durcissants ou comme isolants.
<i>Bichromate potassique.</i>	
<i>Chlorure d'or.</i>	Fibres nerveuses.
<i>Acide hyperosmique.</i>	Moelle nerveuse, cylindre-axe, cellules nerveuses, — graisse, — épithélium intestinal.
<i>Chlorure de palladium.</i>	Muscles lisses, etc.
<i>Nitrate argentique.</i>	Épithéliums, cylindre-axe, cellules nerveuses.
<i>Acide picrique.</i>	} Voir ci-après l'étude particulière de ces réactifs.
<i>Carminate d'ammoniaque.</i>	
<i>Picro-carminate d'ammoniaque.</i>	
<i>Aniline.</i>	
<i>Hématoxyline.</i>	
RÉACTIFS ALTÉRANTS :	
Leur principal emploi consiste dans l'ablation de certaines substances, c'est-à-dire que ces réactifs font disparaître momentanément, ou pour toujours certains éléments ou certains principes immédiats.	
<i>Acide acétique.</i>	Tissu lamineux.
<i>Acide sulfurique étendu.</i>	Sels calcaires normaux ou pathologiques.
<i>Acide chromique.</i>	Sels calcaires des os.
<i>Potasse.</i>	Substances organiques.
<i>Coction.</i>	Enlève tous les éléments capables de se réduire en gélatine et n'attaque pas les substances de nature élastique.
RÉACTIFS DURCISSANTS :	
<i>Alcool.</i>	} Voir ci-après, sur ce qui touche ce sujet, l'étude particulière de chacun de ces agents.
<i>Acide chromique.</i>	
<i>Bichromate potassique.</i>	
<i>Solution de Müller.</i>	
<i>Acide oxalique.</i>	
<i>Acide acétique.</i>	
<i>Acide sulfurique étendu.</i>	
<i>Acide hyperosmique.</i>	
<i>Acide picrique.</i>	
<i>Chlorure d'or.</i>	
<i>Coction.</i>	
<i>Dessiccation.</i>	
<i>Congélation.</i>	
* Les réactifs colorants peuvent être considérés comme isolants, dans le plus grand nombre des cas.	

572. Il est des réactifs qui doivent être employés à des degrés de dilution différents. Il est utile par suite de disposer pour chacun d'eux une série de flacons destinés à les contenir, préparés d'avance à des degrés de concentration méthodiquement gradués, de manière à les avoir sous la main d'une manière sûre aussitôt que l'exige telle ou telle recherche.

ARTICLE I. — DES LIQUIDES ANIMAUX POUVANT SERVIR DE RÉACTIFS
OU DE VÉHICULES POUR LES PRÉPARATIONS EXTEMPORANÉES, ETC.

573. Les éléments anatomiques naturellement en suspension dans un plasma, une sérosité ou un mucus doivent être observés dans le liquide où ils vivent jusqu'au moment où il s'agit de constater l'action sur eux de tels et tels réactifs chimiques.

Pour diluer ces liquides et écarter les éléments trop nombreux qu'ils renferment, pour observer les fibres musculaires, les éléments du cristallin et beaucoup d'autres, les ovules, les tissus des embryons, les muqueuses à cils vibratiles, les villosités et d'autres tissus pris sur des animaux vivants ou qui viennent d'être tués, il faut prendre le sérum sanguin privé de ses globules par la coagulation de la fibrine, les sérosités de telle ou telle séreuse dont on a laissé les éléments se déposer au fond du vase. On sait que ces liquides se conservent plusieurs jours sans altération et leur putréfaction est retardée fort longtemps quand on laisse un petit morceau de camphre à leur surface ainsi que l'a remarqué Landolt.

Il sera utile dans ce cas d'avoir examiné préalablement la forme des petits cristaux et des dendrites que donnent les dissolutions de camphre en s'évaporant et les petits cristaux prismatiques hexagonaux, à angles arrondis ou non ainsi que les grains simples ou geminés, sphéroïdaux ou ovoïdes que produit la précipitation par l'eau de ses solutions alcooliques; car il ne faut pas confondre ces granules avec des corps gras, calcaires, etc., qui réfractent la lumière presque aussi fortement les uns que les autres.

574. Quand j'ai les yeux d'un animal tué récemment ou depuis 2 à 3 jours seulement, l'humeur aqueuse et le liquide suintant du corps vitré placé dans une capsule ou un verre de montre sont les véhicules inoffensifs que j'emploie toujours au lieu de l'eau dans ces circonstances, depuis que je les ai proposés dans la 1^{re} édition de ce livre en 1849. (Voyez l'indice de réfraction du corps vitré, et celui de l'eau comparativement, p. 279.)

Le blanc d'œuf délayé dans 5 à 10 fois son volume d'eau, avec ou sans 1 à 4 p. de chlorure de sodium pour 100, selon les cas, et au besoin filtré sur un linge fin, donne des liquides (*sérums artificiels*) qui n'attaquent pas les éléments anatomiques comme l'eau et permettent de les observer vivants, plus ou moins longtemps et aussi bien que les précédents.

Aux liquides d'origine organique pouvant être utilement employés dans les manœuvres préparatoires qui précèdent presque tout examen microscopique il faut joindre la sérosité sous-arachnoïdienne, l'iodosérum et le suc gastrique dont l'action se rapproche du reste de celle des acides faibles.

Emploi du liquide sous-arachnoïdien et du liquide amniotique.

575. La sérosité que je préfère à toutes les autres pour servir de véhicules aux préparations, pour étendre le sperme contenant des spermatozoïdes vivants, les mucus contenant des épithéliums à cils vibratiles en mouvement, etc., c'est la sérosité céphalo-rachidienne. Toutes les fois qu'on peut s'en procurer, il est facile de la conserver pendant des mois sans altération, avec ou sans camphre placé à la surface. Comme elle est très-pauvre en principes albuminoïdes, elle a l'avantage de ne pas se coaguler et se troubler quand on traite par l'acide acétique, etc., les éléments anatomiques qu'elle a servi à préparer. Celle du chien, du cheval et de l'homme sont également favorables.

Quand on a des œufs entiers de ruminants, de chiens, de chats, etc., contenant un liquide amniotique limpide, comme il l'est ordinairement quand les fœtus sont encore peu développés, il faut le garder pour en user comme de la sérosité sous-arachnoïdienne dont à cet égard il partage les propriétés.

Emploi du suc gastrique.

576. L'emploi du suc gastrique comme isolant a été proposé et utilisé par Faivre (1858) dans ses recherches sur le système nerveux de la sangsue. Polailon (1866) en a obtenu de bons résultats dans l'étude des ganglions nerveux des vertébrés, et c'est le moyen qui lui a rendu les plus grands services pour arriver à l'isolement et à l'examen des rapports réciproques des cellules nerveuses ganglionnaires. Nous y reviendrons en parlant du mode de préparation de ces éléments.

Quand on s'est procuré du suc gastrique on peut le conser-

ver plusieurs jours sans altération, surtout en plaçant à sa surface un petit morceau de camphre, si on est en été particulièrement.

Employé à froid son action prolongée pendant 5 ou 6 heures est peu différente de celle de l'acide acétique étendu. Mais au bout de 24 heures de macération le tissu lamineux du ganglion est dissous et les éléments propres de ce dernier se dissocient sous forme de débris par l'agitation du vase qui les contient.

La paroi propre des tubes et des cellules ganglionnaires est attaquée, dissoute et la gaine médullaire elle-même se dissocie de sorte qu'on ne voit bien, après l'isolement, que le corps de la cellule et souvent sur une petite longueur seulement les cylindres-axes qui en portent. A *chaud*, c'est-à-dire à la température du corps humain au bout de 2 ou 3 heures le gonflement et la dissociation précédente sont achevés.

La quantité de suc gastrique doit être proportionnée à la masse du tissu soumis à son action. Deux gouttes de suc gastrique suffisent pour la désagrégation de 5 à 6 ganglions rachidiens de rat placés dans un petit tube bouché et tenu sous l'aisselle, comme le faisait Spallanzani pour les digestions artificielles.

Iodsérum.

577. L'iodsérum est un liquide inoffensif dont l'usage a été conseillé par M. Schultze et qui donne d'excellents résultats pour l'étude des tissus délicats, du système nerveux, des glandes, des leucocytes, des hématies, etc. Il peut servir comme isolant quand on y laisse macérer le tissu pendant quelques jours. Il doit du reste être employé chaque fois que l'on veut voir des éléments parfaitement normaux. Cependant on peut toujours dire qu'ils ont subi un certain degré de coagulation et que par là même ils ne sont pas absolument dans leur état naturel.

M. Schultze l'a mis en usage avantageusement aussi pour étudier les cellules des couches profondes de l'épiderme dont il montre la forme particulière.

L'iodsérum se fait avec l'eau de l'amnios de carnassiers, de ruminants, de rongeurs, etc., à laquelle on ajoute une certaine quantité de teinture d'iode qui la trouble. On filtre et ce liquide filtré doit être ajouté à l'eau amniotique encore à l'état naturel. On ajoute environ 6 à 8 gouttes du premier liquide iodé à 50 grammes d'eau de l'amnios. On obtient alors un fluide coloré en jaune qui pâlit bientôt. Il est alors nécessaire d'ajouter de nouvelles quantités de teinture

iodée. Il s'altère et se trouble assez vite quand il est fait avec le liquide amniotique des ruminants ; pourtant on peut empêcher cette altération en laissant un petit morceau de camphre sur le fluide.

D'après M. Schultze, le liquide suivant peut remplacer l'iodsérum :

Blanc d'œuf.	50 grammes.
Eau.	20 —
Chlorure de sodium.	40 centigrammes.

On ajoute ensuite à ce fluide filtré ou non environ 6 gouttes de teinture d'iode pour 50 grammes de liqueur (*iodsérum artificiel*).

ARTICLE II. — DES LIQUIDES NEUTRES SERVANT DE VÉHICULE OU DE RÉACTIFS.

Emploi de l'eau.

578. Tout anatomiste doit avoir à sa disposition de l'eau distillée pour certaines opérations dont il sera question plus loin. Il doit aussi avoir en permanence devant son microscope un verre ou un autre vase à large ouverture, plein d'eau distillée ou simplement filtrée, pouvant être préservée des poussières par un couvercle. Cette eau sera renouvelée dès qu'on s'apercevra qu'il s'y développe des infusoires.

Comme presque tous les objets soumis à l'examen microscopique doivent être étudiés dans un liquide, une goutte d'eau portée avec une baguette sur le porte-objet, servira pour y placer, avec ou sans dissociation selon la nature des objets ; ceux de ces derniers qu'on veut préparer et observer, sans avoir pour but de les conserver en collections. Elle sert aussi de véhicule pour les préparations extemporanées de presque tous les éléments et les tissus végétaux, les poils, les écailles, les téguments, les coquilles ou carapaces, les tissus squelettiques des vertébrés et des invertébrés.

Elle sert également pour la préparation, dans ces conditions, de la plupart des éléments et des tissus épithéliaux, des éléments et des tissus élastiques et fibreux, de ceux des tendons, des muscles, de beaucoup de glandes, etc., des coupes de la plupart des tissus durcis par divers agents chimiques, ou par la dessiccation ; coupes auxquelles on ajoute ensuite ou non de la glycérine, etc.

Elle sert pour étendre et gonfler beaucoup de mucus, dont elle n'altère pas les cellules épithéliales, pour dissocier les matières fécales et la plupart des concrétions naturelles ou morbides, pour examiner les coupes de celles-ci, etc.

On peut employer de l'eau pour étudier la circulation chez les batraciens et les poissons ainsi que leurs spermatozoïdes, et les cils vibratiles des branchies sur les mollusques, ainsi que sur les infusoires. Pour cet ordre d'examen, il faut prendre de l'eau de mer, et non de l'eau douce, quand il s'agit des animaux marins, et *vice versa*.

579. L'eau en trop grande quantité fait au contraire cesser les mouvements des cils vibratiles et des spermatozoïdes des mammifères et des oiseaux, ainsi que ceux des fibres musculaires placées sous le microscope. Pourtant, ajoutée en petite proportion au sperme ou au mucus, dans lequel sont des épithéliums vibratiles, de manière à ce qu'elle n'arrive que lentement à ces corps, elle rend leurs mouvement plus rapides ou plus étendus.

L'eau sert de réactif gonflant et dissolvant pour les hématies et les leucocytes, pour les cellules de la notocorde, pour celles des épithéliums en voie de développement, et de beaucoup de glandes, ou même de certaines muqueuses. Il faut par conséquent en éviter l'emploi quand on veut voir quelles sont réellement les dispositions normales de ces éléments et des couches qu'ils forment.

L'eau rend grenues et opalines certaines cellules, comme les cellules nerveuses et la plupart de celles qui couvrent les tissus des embryons, ainsi que les ovules pris dans les ovaires et l'utérus. Elle agit de même sur beaucoup de substances amorphes intercellulaires et interfibrillaires. On peut constater ce fait en plaçant dans l'eau une portion de la rétine, celle d'une séreuse quelconque, etc. Ces membranes perdent alors de leur transparence et deviennent opalines. Ce n'est donc également ici que comme réactif qu'il faut en user, et il faut choisir d'autres véhicules pour l'étude des dispositions anatomiques réelles de ces parties.

On voit d'après ce qui précède qu'il est un grand nombre de parties constituantes des animaux pour lesquelles l'eau n'est pas un liquide inoffensif, et dans l'examen desquels son emploi doit être évité. Il doit l'être en particulier dans beaucoup des observations faites dans un but de recherches scientifiques nouvelles.

580. Ce n'est pas seulement parce que l'eau est un liquide d'un emploi facile qu'on s'en sert beaucoup en anatomie. C'est encore parce que la faiblesse de son pouvoir réfringent permet, si l'on peut dire ainsi, aux divers corps d'origine organique plongés dans son épaisseur sous le microscope de trancher nettement sur elle, par

la manière dont ils dévient la lumière comparativement au milieu qu'elle représente par rapport à eux.

Quand cette différence est considérable, ces corps forment lentille en quelque sorte et ils dessinent sur la rétine une image bien tranchée, à contours foncés, aisément apercevable, à centre clair ou même brillant.

Sous ce rapport, il n'est pas inutile de donner ici l'indication de la valeur de l'indice de réfraction des seuls tissus animaux sur lesquels il ait été mesuré.

L'indice de réfraction de l'eau est 1,336, celui de la cornée 1,550 suivant les modernes, et de 1,330 selon Chaussat; celui de la capsule du cristallin 1,539 d'après Chaussat et 1,405 suivant les auteurs modernes; celui des couches molles, dites couches moyennes par les physiiciens, est de 1,395 suivant Chaussat et de 1,429 suivant les modernes; celui du noyau central est de 1,454 selon ces derniers et de 1,420 suivant Chaussat. Celui de l'humeur vitrée est de 1,339 d'après celui-ci, 1,348 selon les autres. Son pouvoir dispersif est 0,012 ou 0,014, c'est-à-dire le même que celui de l'eau.

L'indice de réfraction d'un objet comparé à celui du liquide employé étant la cause de la vision plus ou moins nette de cet objet et de l'accentuation de ses contours, on peut dire en règle générale qu'avec des objets complètement frais et non coagulés, on doit employer des fluides à indice de réfraction faible et le plus possible inoffensifs; l'iodosérum, le sérum, l'eau albumineuse, l'acide chromique faible et enfin l'eau distillée seront les liquides employés.

581. On se sert généralement de l'eau parce que c'est le liquide qu'on a ordinairement sous la main; mais on vient de voir que ce liquide est loin d'être toujours inoffensif. Lorsqu'on voudra observer des éléments dans leur état aussi normal que possible, il faudra la remplacer, dans ce cas, et du reste en général, par la solution d'une partie d'acide chromique dans 5,500 p. d'eau; cette dernière solution, outre qu'elle est à peu près inoffensive, offre l'avantage de colorer légèrement les éléments, et par là d'accentuer leurs contours.

L'iodosérum, le sérum sanguin, l'humeur aqueuse, la sérosité sous-arachnoïdienne, etc., sont cependant préférables lorsqu'on a ces liquides à sa disposition. En outre, ils possèdent un indice de réfraction qui ne se rapproche pas trop de celui des éléments anatomiques, et par là même ne gêne pas beaucoup l'observateur,

surtout s'il fait usage des diaphragmes qui lui permettent de déterminer exactement la proportion de lumière la plus utile pour examiner tel ou tel objet.

L'eau sucrée est aussi employée dans les préparations extemporanées, mais cependant il faut tenir compte de son indice de réfraction plus grand que celui de l'eau et qui rend déjà les contours des objets moins nets.

Glycérine.

382. La glycérine est peu employée comme réactif proprement dit. On l'utilise le plus souvent ou pour donner de la transparence à des objets durcis par l'acide chromique ou l'alcool ou colorés d'une façon quelconque.

Elle s'emploie pure ou étendue d'eau. Son indice de réfraction est de 1,475 quand elle est pure ou de 1,400 quand elle est mêlée d'un volume égal d'eau; aussi les cellules du cristallin qui forment une couche dont l'indice de réfraction est 1,405 ne peuvent-elles presque pas être aperçues dans son épaisseur.

L'action de la glycérine sur les tissus frais est assez analogue à celle de l'acide acétique en ce qu'elle rend ceux-ci très-transparents, le plus souvent même trop, et cela à cause de son indice de réfraction aussi élevé que celui des tissus mêmes et de l'imbibition des éléments eux-mêmes dont elle gonfle un certain nombre, tels que les fibres lamineuses, musculaires et autres. Elle rend évidents les noyaux et les fibres élastiques au milieu des éléments qu'elle a gonflés et rendus transparents.

L'emploi le plus fréquent de la glycérine consiste dans la conservation des pièces, et dans ce cas on la prend pure ou étendue d'eau. On peut conserver ainsi des coupes d'organes ou des éléments isolés préalablement traités par l'acide chromique et aussi des injections. La glycérine associée à la gélatine gommée constitue un excellent moyen de conservation. Comme elle ne s'évapore pas, elle permet de garder longtemps les préparations sans qu'il soit besoin de les cimenter.

Il faut savoir toutefois qu'ajoutée à une préparation déjà placée dans l'eau entre deux lames de verre, elle amène le dégagement de petites bulles d'air qui peuvent gêner dans l'examen des objets.

385. Les diverses particularités précédentes font que la glycérine constitue un véhicule très-souvent employé. Elle est très-utile pour étudier les coupes d'os frais faites à l'aide d'un scalpel, qu'elle rend

transparentes, homogènes; en même temps elle amène un dégagement de gaz dans beaucoup d'ostéoplastes et dans leurs canalicules, ce qui les rend très-nettement apercevables.

Elle sert aussi très-avantageusement à l'étude et à la conservation des parties dures des invertébrés. Toutefois elle exerce une action dissolvante sur les plaques calcaires des Comatules (*Antedon*, etc.) et autres crinoïdes (Carpenter) et sur les premiers points d'ossification du squelette (Ch. Robin); on ne doit donc pas l'employer pour faire les préparations de ces tissus que l'on désire conserver. On ne sait pas encore si cette action dissolvante est due à la glycérine même ou à ce que sa purification imparfaite la laisse mêlée à des traces d'acide sulfurique.

Mêlée à parties égales environ d'acide acétique, elle constitue le meilleur véhicule pour l'étude et la conservation des acariens. Les bulles d'air qui restent dans la préparation disparaissent au bout de quelques jours dans ces conditions, ce qui n'a pas lieu si elle est pure ou mêlée d'eau. Pure elle jaunit à la longue les parties molles de presque tous les animaux.

Son usage est également très-utile dans l'étude des tissus végétaux, des spores, des grains de pollen, ainsi que des corps en général que l'eau mouille difficilement.

Alcool.

384. L'alcool est fréquemment employé en histologie pour durcir les pièces tant normales que pathologiques. Comme action générale, il est durcissant et coagulant et nous croyons que son principal mode d'action est d'enlever l'eau aux tissus mis en contact avec lui. L'alcool et l'acide chromique étant les deux agents durcissants les plus fréquemment utilisés, il est bon de voir quand on doit employer l'un ou l'autre.

L'alcool est le meilleur durcissant que possèdent les histologistes lorsqu'il s'agit de voir la disposition relative des différents éléments tels que ceux du système nerveux, de beaucoup de glandes, des divers tissus essentiellement formés de fibres, etc.

Mais il déforme notablement en les rétractant ceux des éléments qui ont forme de cellule. Il n'en est pas de même pour les fibres musculaires, lamineuses et autres qu'il conserve avec tous leurs principaux caractères pendant des années et permet de reconnaître aisément quelle que soit la durée de leur conservation. Du reste sur beaucoup de tissus les cellules rétractées reprennent leur forme au

contact de l'eau et de la glycérine mélangées et de l'un ou de l'autre de ces liquides avec un peu d'acide acétique. L'alcool compte aussi parmi les liquides qui durcissent sans les déformer les globules rouges du sang quand il est suffisamment concentré, ce qui permet de les retrouver bien reconnaissables dans les coupes des pièces durcies, tant dans les capillaires qu'au dehors. Il les durcit et les amincit un peu et leur donne un aspect qui a quelque chose de l'apparence des corps d'origine minérale.

585. L'alcool doit être employé de préférence à l'acide chromique lorsqu'on veut plus tard colorer les éléments d'une préparation avec le carmin et les placer ensuite dans le baume du Canada ; il y a, en effet, toute une série de manipulations qu'il n'est pas nécessaire d'exécuter dans ce cas et qui rendent très-longue la préparation à l'acide chromique. Ajoutons que les matières colorantes se fixent beaucoup mieux sur les préparations durcies par l'alcool qu'à celles obtenues à l'aide de l'acide chromique. Il est très-utile sous ce rapport pour durcir le pancréas, les glandes salivaires, le testicule, etc. Les coupes colorées par le carmin permettent de bien distinguer les parties constituantes de ces organes et celles de leurs cellules épithéliales qui se sont distendues et sont devenues vésiculeuses par la production de gouttes hyalines, dites de *mucine*. Comme le carmin ne teinte pas ces gouttes tandis qu'il colore les mucus proprement dits, tels que ceux du larynx, de la pituitaire, etc., avec presque autant d'intensité qu'il le fait pour les cellules épithéliales, il est probable que ces gouttes ne sont pas de la mucosine.

On peut user simultanément de l'acide chromique et de l'alcool comme durcissants ; voici alors comment on procède : des organes sont placés d'abord pendant 2 à 5 semaines dans l'acide chromique, puis mis dans l'alcool.

L'acide chromique pourtant ne peut être remplacé par l'alcool dans l'étude du système nerveux. L'acide chromique l'emporte encore sur l'alcool dans le cas où il agit comme durcissant et colorant, et quand sa propriété colorante sert à différencier ou délimiter des éléments. Tous deux du reste conservent très-bien les hématies dans les capillaires, et on peut voir sur les coupes la distribution de ces derniers qui retiennent les globules, quand on plonge dans ces fluides la pièce encore congestionnée. (Voy. p. 6.)

L'alcool est employé pour durcir les organes sur lesquels on a pratiqué des injections, pourvu que la matière de celle-ci ne soit pas dissoute par lui.

Pour durcir les tissus injectés avec une matière colorante telle que le carmin, l'aniline ou autres susceptibles d'être attaquées par les acides, il faut se servir de l'alcool de préférence à l'acide chromique ou même au chromate de potasse.

L'alcool, avec ou sans un peu de camphre, est employé pour empêcher la formation des moisissures dans les préparations à l'acide chromique. Il est aussi d'une grande utilité pour enlever l'eau d'une préparation quand on veut placer celle-ci dans le baume du Canada. Pour cela il faut faire séjourner la préparations pendant un jour ou deux dans l'alcool ordinaire, puis dans l'alcool absolu après quoi on les porte pendant quelques heures dans l'alcool méthylique absolu, et enfin dans l'essence de térébenthine avant de les placer dans le baume ou térébenthine du Canada.

586. L'alcool est souvent employé comme véhicule au lieu d'eau pour les préparations extemporanées des corps qui, plus ou moins humectés de substances grasses ne se laissent pas mouiller aisément par l'eau. Tels sont les poils, les écailles de beaucoup d'invertébrés et de vertébrés, les plumes, les pellicules épidermiques, les champignons parasites de la peau, l'épiderme et les poils de beaucoup de plantes, de fruits, etc. A mesure qu'il s'évapore, ce qui a lieu assez vite, on le renouvelle par gouttes introduites entre les lames de verre ou on peut, après qu'il a agi comme dissolvant des graisses et des résines, le remplacer par de la glycérine pure ou mêlée soit à lui soit à de l'eau.

Pour se rendre compte des différences d'aspect que présentent les mêmes corps selon qu'ils sont plongés dans l'un ou l'autre de ces liquides successivement, il faut se rappeler que le *pouvoir réfringent* de l'eau est 0,785, celui de l'alcool 1,012 ; ou que l'*indice de réfraction* de l'eau est 1,356, celui de l'alcool 1,374, celui de la glycérine pure 1,475 et celui de la glycérine mêlée à égale partie d'eau est 1,400.

L'alcool est aussi employé pour déterminer la coagulation et la rétraction de l'utricule azoté des cellules végétales, moyen par lequel on met en évidence son existence et les rapports du noyau avec elle.

Il entre dans un certain nombre de mélanges dont il sera question à propos des corps essentiellement actifs qui l'accompagnent alors.

587. *L'alcool méthylique ou esprit de bois*, plus employé en Angleterre que partout ailleurs, peut remplacer l'alcool ordinaire dans un grand nombre des conditions précédentes, mais, hors son bas prix, il a peu d'avantage sur lui, ou ne le vaut pas.

Éther proprement dit ou oxyde d'éthyle.

588. Ce composé dont l'indice de réfraction est 1,358 est rarement employé directement parce qu'il est trop volatil, ne se mêle pas à l'eau et mouille difficilement les tissus. Mais comme il n'attaque pas ces derniers il sert à laver sur le porte-objet ou dans un tube à expérience les coupes ou autres formes des préparations du tissu adipeux, des glandes sébacées, de la moelle, du cerveau, etc., dont on veut enlever les principes gras superficiels ou interstitiels.

Chloroforme.

589. Il sert à dissoudre le baume de Canada de façon à rendre son maniement plus facile et a l'avantage sur l'éther de ne pas s'évaporer aussi rapidement. Plus miscible à l'eau que l'éther, il est employé directement ou indirectement comme lui dans l'étude des tissus animaux et végétaux contenant des corps gras dont on veut les débarrasser.

Essences de térébenthine et autres.

590. L'essence de térébenthine peut enlever la graisse dans les préparations. C'est Lyonnet qui s'en est servi le premier dans ce but; les autres essences, la benzine et l'éther, sont utilisés dans le même cas. Henle en a usé pour enlever la moelle des tubes nerveux dans son travail sur la matière amorphe cérébrale.

Lorsqu'on veut se servir du baume du Canada pour conserver une préparation, on plonge celle-ci préalablement dans l'essence de térébenthine. Elle donne de la transparence aux pièces qui ont macéré dans l'alcool. Son indice de réfraction est de 1,476, c'est-à-dire presque le même que celui de la glycérine (1,475).

Les essences s'évaporant plus lentement que l'alcool, on peut les prendre comme véhicule pour les préparations extemporanées des objets humectés de corps gras, tels que les plumes, les poils, les téguments de divers articulés, etc.

ARTICLE III. — DES LIQUIDES ACIDES SERVANT COMME MOYEN D'ÉTUDE ET DE PRÉPARATION DES OBJETS MICROSCOPIQUES.

Acide acétique.

591. C'est de tous les acides le plus anciennement et le plus souvent employé en histologie,

L'acide acétique qu'on doit avoir dans un laboratoire est l'*acide acétique cristallisable ou monohydraté*. Il est parfois assez important de pouvoir doser exactement les quantités employées. C'est pourquoi il vaut mieux avoir cet acide que ceux qui, plus étendus ou moins purs, sont appelés *acide acétique du verdet*, *acide pyroligneux* et *vinaigre de bois* (mais non *esprit de bois*; voy. p. 285). Pourtant, au contact des tissus, etc. ces derniers ont à peu près les mêmes effets que le précédent.

L'acide acétique n'est jamais un liquide inoffensif, quelle que soit la dose à laquelle on l'emploie; lorsqu'on ne remarque d'abord aucune modification bien appréciable, on peut bientôt observer cependant une transparence plus grande qu'avant son action.

592. Comme isolant, l'acide acétique est fréquemment utilisé et nous avons ici à distinguer deux cas importants: 1° l'acide acétique est réellement isolant à la manière de l'acide chromique, car appliqué sur un tissu, il permet d'en dissocier les éléments sans qu'aucun d'eux ait subi une modification tout à fait notable et qu'aucun n'ait disparu soit momentanément, soit définitivement; 2° l'acide acétique est isolant en détruisant ou faisant disparaître momentanément certains éléments. Comme véritable isolant, l'acide acétique s'emploie pour gonfler les cellules épithéliales, et par là les faire se détacher les unes des autres, mais surtout pour enlever toute la couche épithéliale à la surface d'une muqueuse par exemple, pour en montrer les papilles. (L'acide sulfurique doit au contraire lui être préféré quand on n'étudie que l'épiderme.)

Cette même propriété a été mise en usage dans l'étude de la structure de la peau; en effet il suffit d'une macération de vingt-quatre heures d'un lambeau de peau dans l'eau, très-légèrement acidulée par quelques gouttes d'acide acétique, pour qu'on puisse détacher complètement l'épiderme et le corps muqueux du derme et cela sans aucunement briser les papilles du derme, et sans qu'il reste la moindre trace du corps muqueux à leur surface; c'est de cette manière qu'on étudie les terminaisons nerveuses dans la peau. Cette méthode permet d'observer l'épiderme complètement détaché et ayant conservé presque toutes ses propriétés normales; dans l'étude des corpuscules du tact par la méthode que nous venons d'indiquer, outre la propriété isolante, la propriété altérante de l'acide acétique est mise en jeu.

L'acide acétique, comme nous venons de le voir, peut être isolant en faisant disparaître certains éléments; c'est ce qui a lieu quand