

pour étudier les fibres élastiques dans le tissu lamineux, on traite ce dernier par l'acide acétique. C'est en se servant de ce procédé qu'on peut élucider la plupart des questions relatives à la structure de la trame élastique du derme et des muqueuses, etc.; l'acide acétique en isole pour ainsi dire en outre les nerfs, les vaisseaux, les muscles, etc.

Kölliker l'a employé pour suivre la terminaison des nerfs dans les muscles chez la grenouille, et à cet effet, il conseille de se servir d'un mélange de huit à dix gouttes d'acide acétique dans cent parties d'eau.

595. La principale action de l'acide acétique est basée sur sa propriété altérante. Si on applique de l'acide acétique sur certains tissus, on les voit pâlir, se gonfler, devenir transparents, quelquefois disparaître complètement et, en même temps, on distingue plus nettement certains éléments. Les fibrilles du tissu lamineux traitées par l'acide acétique deviennent tout à fait transparentes, invisibles, gonflées, elles sont réduites en une masse gélatineuse. Si on suit à l'œil nu l'action de l'acide acétique sur un tissu contenant des fibres lamineuses, on le voit augmenter de suite de volume; au microscope les fibrilles ont complètement disparu; mais ce qu'il y a de particulier dans cette action, c'est que l'on peut faire reparaitre les fibrilles telles qu'elles étaient avant, en enlevant l'acide acétique par le lavage dans l'eau ou en le neutralisant par l'ammoniaque, etc. En même temps que les fibres lamineuses disparaissent, on voit apparaitre les noyaux embryoplastiques, les fibres élastiques entre les premières et leurs faisceaux, ou enroulées autour de ceux-ci, alors qu'on ne pouvait que vaguement constater leur existence avant l'action de l'acide acétique.

Remarquons ici que l'action de l'acide acétique est telle que nous venons de le dire sur les fibres lamineuses fraîches; elle est même alors très-rapide, mais lorsque les fibrilles sont coagulées, et surtout conservées depuis longtemps dans l'acide chromique ou l'alcool, l'action est bien plus lente. Comme dans ces conditions, il rend transparents les faisceaux ou les couches formés par ce tissu, il est souvent employé dans le but sus-indiqué lors de l'examen des coupes des tissus durcis.

Sous ce rapport, on peut dire que l'acide acétique est le véritable réactif servant à distinguer le tissu lamineux des fibres élastiques et de quelques autres éléments fibrillaires qu'il n'attaque pas.

594. Une des propriétés de l'acide acétique est de rendre apparents

les noyaux partout où il y en a qui étaient masqués par les fibres lamineuses, comme dans les tissus tendineux, fibreux, etc.; cela tient à ce qu'il gonfle et rend transparentes les substances constituant ces éléments ou le corps de la cellule, dans le cas où il s'agit de couches épithéliales, des glandes, des muqueuses, etc., tandis qu'il resserre la substance des noyaux et rend leur contour extérieur plus foncé. On fait ainsi apparaitre les noyaux embryoplastiques dans l'épaisseur des faisceaux striés des muscles, les noyaux du myolème, etc. On connaît aussi la manière dont il gonfle, puis dissout la substance du corps des leucocytes en rassemblant d'abord leurs granulations sous forme de un à trois noyaux vers le centre de l'élément.

595. L'acide acétique gonfle et rend transparente la fibrine comme le tissu lamineux, ainsi que la substance qui reste après qu'on a enlevé à des coupes des os leurs sels calcaires avec de l'acide chlorhydrique très-dilué. Ces particularités sont dues à ce que, comme l'acide sulfurique étendu, modifie les substances organiques azotées de telle façon, qu'il les rend aptes à fixer une grande quantité d'eau; celle-ci, auparavant, ne les pénétrait pas, et, après cette action chimique, elle les hydrate comme dans le cas de l'hydratation de la silice gélatineuse et d'autres composés encore, mais sans les dissoudre. Longtemps la transparence, acquise alors par les couches et les faisceaux fibrillaires ou striés du tissu lamineux et de la fibrine, a fait croire à la dissolution de ces corps par l'acide acétique. Elle a fait croire aussi à la présence d'une paroi autour des faisceaux du tissu fibreux, qu'on voit se gonfler et devenir variqueux au contact de cet acide, sans que leur aspect de cordons disparaisse. Il faut l'intervention de la chaleur portée au degré de l'ébullition ou à peu près pour que, de l'état d'hydratation, la substance ramollie arrive à l'état de *liquéfaction*, plutôt même qu'à celui de dissolution proprement dite.

596. L'acide acétique en gonflant les éléments devient durcissant quand l'augmentation de masse de la substance gonflée est empêchée et celle-ci comme étranglée partout par une trame d'éléments non modifiés, tels que les fibres élastiques. Cette particularité peut être utilisée dans certains cas. Il y a des tissus qui comme la peau se gonflent suffisamment et durcissent alors au point de permettre de faire des coupes minces. Ce degré de durcissement a ici pour cause l'existence d'une grande quantité de fibres élastiques qui emprisonnent des groupes de fibres lamineuses dans le derme;

Pour obtenir ce résultat, sur la peau par exemple, il suffit de la laisser macérer pendant vingt-quatre heures dans l'acide acétique étendu d'eau ; l'épiderme se détache et laisse à nu le derme avec ses papilles ; l'on peut alors étudier sur la peau des phalanges les corpuscules du tact ; le tissu lamineux étant devenu homogène et hyalin, la propriété isolante se manifeste.

397. L'acide acétique, grâce à sa propriété de gonfler les éléments et les tissus, est encore employé pour ramollir et rendre transparents des organes qu'on a fait dessécher et sur lesquels on pratique des coupes minces qu'on traite ensuite par cet agent étendu.

On l'utilise comme dissolvant et altérant pour enlever les sels calcaires dans les tissus qui en possèdent normalement ou pathologiquement.

L'acide acétique est également employé pour précipiter le carmin de sa dissolution ammoniacale dans les préparations par imbibitions et les injections.

On s'en sert aussi dans l'étude des dépôts d'urates, de phosphates et de carbonates calcaires des urines, dans celle du tartre dentaire, etc.

Des mélanges acétiques.

398. Il est souvent utile pour certaines recherches spéciales de faire agir l'acide acétique étendu de divers autres liquides sur des organes qu'on y met en macération pendant quelques heures ou quelques jours avant d'en exécuter des coupes ou autres préparations, pour la peau, l'intestin, etc. ; il faut parfois faire sécher l'organe qui s'est gonflé et a pris de la transparence par macération avant de pratiquer les coupes minces que l'eau gonfle et rend de nouveau translucides.

Quelques gouttes de cet acide par 50 grammes d'eau suffisent pour rendre, au bout de quelques jours le tissu cellulaire assez transparent pour qu'on puisse très-bien voir par exemple, les ganglions nerveux placés sous la muqueuse intestinale, et dans les couches musculaires (Auerbach) de l'intestin le long des vaisseaux, etc. Pour bien reconnaître des fibres musculaires lisses, Moleschott a employé, pendant quelques minutes, l'acide acétique dans les proportions de 1 ou 1 1/2 p. 100. L'acide acétique fort, pesant 1,070 spécifiquement, est mêlé avec l'eau dans les proportions suivantes : eau, 99, ou 98 1/2 ; acide 1 à 1 1/2.

Ce même observateur a également proposé le mélange suivant

dont je me suis servi utilement pour étudier les coupes de la peau et de l'intestin de divers vertébrés :

1 partie d'acide acétique monohydraté ;

1 partie d'alcool, d'une pesanteur spécifique de 0,815 ;

2 parties d'eau distillée.

399. *Acide acétique et acide azotique, glycérine, alcool.* — Beale recommande d'ajouter un peu d'acide azotique au mélange d'alcool et d'acide acétique, quand on fait des recherches sur des parties épithéliales. On doit également ici varier le mélange selon les besoins. La formule qu'il a donnée est la suivante :

Eau	50 grammes.
Glycérine	60 —
Alcool	60 —
Acide acétique	6 —
Acide azotique	3 —

400. *Acide acétique et alcool.* — Une partie d'acide dans trois d'alcool donnent un liquide qui durcit et rend transparents les tissus de la moelle épinière, des ganglions, en peu d'heures. Ce procédé proposé par Clarke, utilisé par Schultze peut aussi être employé pour l'étude des tissus riches en fibres élastiques.

401. *Acide acétique et glycérine.* — L'acide acétique mêlé de parties à peu près égales de glycérine est très-utile pour l'étude et la conservation des acariens et autres articulés microscopiques. Beale recommande ce mélange pour l'examen de beaucoup de tissus peu transparents en le faisant dans des proportions variables que l'expérience apprend à déterminer au fur et à mesure des recherches exécutées.

Acide chlorhydrique.

402. L'acide chlorhydrique peut être employé comme isolant et comme altérant.

Comme isolant, sa principale application est celle qui concerne l'étude de la terminaison des nerfs dans les muscles ; ici on prend une solution de 1 partie d'acide pour 1000 parties d'eau et on laisse macérer pendant vingt-quatre heures. Comme isolant, il a été utilisé par Henle pour étudier les canaux excréteurs du rein : on pourra employer à cet effet 1 p. d'acide chlorhydrique pour 2 à 3 d'eau.

Comme altérant, la solution faible d'acide chlorhydrique sert pour faire disparaître le tissu lamineux et mettre en évidence les fibres élastiques, etc.

L'acide chlorhydrique concentré agissant pendant 3 à 4 jours, ou

dilué agissant pendant 5 à 8 jours permet d'étudier la substance gélatineuse des os, celle de l'ivoire des dents. A chaud et sur des coupes minces l'acide dilué dissout rapidement les sels et la substance organique, la paroi des tubes de la dentine exceptée.

On peut encore s'en servir pour dissoudre les substances calcaires dans les tissus normaux, les productions pathologiques qui en sont incrustées, dans divers calculs et concrétions, etc. Il est dans ce but fréquemment employé en anatomie animale et végétale.

403. L'acide chlorhydrique, devenu jaune au contact des matières organiques ou par son exposition à la lumière, dilué par 2 à 5 fois au moins de son volume d'eau met en évidence d'une manière très-nette les fibres-cellules des tissus qui en renferment dans les embryons des vertébrés et des invertébrés. Ces fibres deviennent assez faciles à isoler dans les tissus qui ont séjourné quelques heures dans l'acide dilué comme il vient d'être dit, mais un séjour trop prolongé les ramollit ou les rend friables.

L'acide chlorhydrique peut être utilisé aussi pour rendre évident le contenu des navicules vivantes et sa disposition, parce qu'il le bleuit ou le rend vert en même temps qu'il fait cesser les mouvements propres de ces cellules végétales.

Acide azotique.

404. L'acide azotique ou nitrique peut être considéré comme isolant, comme altérant, comme durcissant et comme colorant.

Comme isolant, il a été employé par Kühne pour étudier les fibres musculaires, après mélange avec du chlorate de potasse; il devient également isolant en faisant disparaître le tissu lamineux s'il est très-dilué de manière à être altérant de ce dernier tissu. Il sert ainsi à chercher les terminaisons nerveuses dans les muscles.

Il a été utilisé comme colorant grâce à sa propriété de teinter en jaune les substances albuminoïdes des tissus animaux, l'utricule azoté et le noyau des cellules végétales. Son emploi le plus fréquent est pour isoler les fibres musculaires lisses et pour enlever les substances calcaires déposées dans les tissus.

Pour isoler les muscles lisses on se sert de cet acide dilué dans les proportions suivantes :

Eau	400
Acide azotique	100

Dans ce cas au bout de quelques jours de macération les fibres lisses s'isolent avec la plus grande facilité. En essayant l'acide azo-

tique sur les muscles lisses de l'intestin, nous avons pu nous convaincre que ce réactif permet d'isoler avec la plus grande facilité les glandes de Lieberkühn, en conservant tout à fait intact le revêtement épithélial.

L'acide azotique, dans les proportions de 4 à 5 parties pour 100 parties d'eau ou environ, a de tout temps été employé comme durcissant des tissus musculaires et surtout nerveux, et comme gonflant et ramollissant le tissu lamineux de manière à permettre la facile dissection des nerfs et des muscles. Il durcit et colore un peu la substance amorphe du tissu nerveux gris central prise en masse ou sur les coupes. Il la sépare nettement ainsi du tissu lamineux névrlématique ou autre avec lequel on l'a parfois confondue systématiquement à l'encontre des faits les plus évidents.

Il sert aussi, comme on vient de le voir, pour enlever les substances calcaires soit à l'état de phosphates, soit à l'état de carbonates; il suffit de placer l'os, le cartilage incrusté de sels calcaires, une pièce pathologique ayant subi l'incrustation crétacée dans l'acide nitrique dilué (ac. nitrique 10, eau 100) pour que, après quelques jours de macération, on obtienne l'effet désiré. On peut ainsi isoler les corpuscules osseux, les canalicules dentaires, dissoudre certains calculs, etc.

L'acide nitrique peut encore être utilisé pour constater la présence de la matière colorante de la bile dans un tissu quelconque. Nous parlerons plus loin du fréquent emploi de cet acide en anatomie végétale.

Mélanges nitro-chlorhydriques.

405. En mélangeant à parties égales approximativement l'acide azotique et l'acide chlorhydrique et en mettant une portion de ce mélange dans au moins 5 à 6 parties d'eau, on obtient un liquide qui conserve longtemps le tissu musculaire de la vie végétative, le tissu nerveux central qu'il durcit, etc. Il permet ensuite d'isoler aisément les fibres-cellules du premier et celles des vaisseaux sanguins, celles des capillaires surtout. Ce mélange peut être utilisé de la même manière pour la recherche des fibres musculaires chez les invertébrés, mais il faut en augmenter la dilution dans des proportions que l'expérience apprend seule à déterminer.

Mélanges d'acide azotique et de sels de potasse.

406. En ajoutant du chlorate de potasse à de l'acide azotique monohydraté ordinaire, on obtient un liquide dangereux à manier

parce qu'il est détonant; plus ou moins étendu d'eau, il a servi à Kühne à isoler les fibres musculaires et à étudier la terminaison des nerfs. On a proposé l'emploi d'un mélange d'acide azotique et de chlorure de potassium plus ou moins dilué, pour étudier les tubes urinifères. Il n'a guère d'avantage sur le mélange nitro-chlorhydrique.

Acide sulfurique.

407. L'acide sulfurique peut être utilisé comme isolant, comme altérant, comme durcissant.

Comme isolant on s'en sert avec avantage dans l'étude des poils et des ongles, et en général des substances cornées. Ce réactif permet en effet d'isoler les cellules de l'ongle, et pour cela il suffit de faire macérer l'ongle dans l'acide sulfurique concentré. Dans ce cas il est bon de chauffer légèrement, ce qui amène l'isolement des cellules beaucoup plus rapidement que si on avait agi à la température ordinaire. Ce qui vient d'être dit pour l'ongle, s'applique à l'étude de l'épiderme et de la substance corticale des poils. Il gonfle d'une manière remarquable les cellules épithéliales et rend leur noyau très-pâle ou le dissout tout à fait.

Comme isolant et altérant en même temps, on peut le prendre pour faire disparaître le tissu lamineux; à cet effet, on fait macérer dans l'acide sulfurique très-étendu. M. Schultze l'a employé comme durcissant en mêlant 1 à 10 gouttes d'acide concentré à 50 grammes d'eau; il le conseille pour étudier certaines parties des organes nerveux centraux, et les glandes lymphatiques.

D'après les essais que nous avons faits avec ce réactif, il nous paraît donner des résultats satisfaisants.

On peut se servir de l'acide sulfurique pour enlever les sels calcaires, mais il donne rapidement de nombreux cristaux aciculaires de sulfate de chaux, qui gênent l'examen de la préparation, et font qu'on doit lui préférer les acides étudiés plus haut.

L'acide sulfurique est aussi utilisé comme réactif colorant quand il est associé soit au sucre, soit à l'iodé.

408. Nous nous réservons de parler de son emploi fréquent dans l'étude des tissus végétaux en traitant des applications du microscope à la botanique.

Nous avons déjà dit que convenablement étendu, il gonfle les fibres lamineuses et leurs faisceaux, en pâlisant un peu les fibres élastiques qui les accompagnent. Nous avons signalé en même

temps (p. 287) la cause chimique de ces modifications physiques. Le *pouvoir réfringent* de l'acide sulfurique monohydraté est de 0,612.

Son action sur la substance des diverses espèces d'éléments anatomiques, les fibres élastiques exceptées, fait qu'on l'emploie particulièrement dans les cas où l'on veut distinguer les granules de noir de fumée et de charbon proprement dit dans le poumon, dans les glandes lymphatiques, etc., de ceux du pigment mélanique des grains d'hématosine, etc.

Nous reviendrons plus loin sur l'influence de l'acide sulfurique plus ou moins étendu d'eau et chauffé, en parlant de la *coction des tissus* dans divers liquides. En effet, si l'on soumet pendant vingt-quatre heures un fragment de tissu lamineux à l'action de l'acide sulfurique affaibli, 10 grammes sur 1,000 grammes d'eau, on le verra se dissoudre à une température de 35 à 40 degrés centigrades et prendre la forme d'une colle. On peut, par ce moyen, isoler d'autres éléments constitutifs du tissu cellulaire en procédant avec précaution. Une ébullition prolongée plus ou moins, suivant les circonstances, de quelques minutes en général, active considérablement cette préparation.

Acide osmique ou hyperosmique.

409. On ne connaît comme on sait, qu'un acide osmique (OsO⁴). Il est employé comme réactif en anatomie depuis quelques années seulement. Il est appelé à rendre de grands services en histologie, tant humaine que comparée, car il a déjà conduit à de bons résultats depuis qu'on l'utilise.

Les effets qu'on peut obtenir à l'aide de ce réactif sont complètement liés à la manière dont on s'en sert; ici plus qu'ailleurs il est important d'apporter une grande attention aux degrés de concentration de la solution et au temps durant lequel on laisse l'objet en contact avec le réactif.

L'acide hyperosmique est colorant et durcissant; ce sont du moins de ses propriétés les deux dont on tire parti. Comme colorant, on peut dire que c'est surtout sur les corps gras que l'acide hyperosmique agit; on obtient une coloration noire très-intense de ces principes. Il peut également être employé à colorer les muscles et les épithéliums.

Pour donner une idée exacte de l'utilité de ce composé, il suffira d'indiquer les travaux dans lesquels on l'a essayé avec succès. Les

résultats les plus remarquables, obtenus à l'aide de ce réactif, sont relatifs au système nerveux central et périphérique.

Si on agit sur les cellules nerveuses de la moelle épinière comme Schultze l'a fait, on obtient dans ces éléments une apparence fibrillaire se continuant dans les prolongements, et qu'on retrouve du reste dans le cylindre de l'axe lui-même; le même résultat est obtenu par l'acide chromique très-dilué, ou le bichromate potassique. L'action sur les fibres nerveuses à moelle est certainement la plus remarquable; dans ce cas on voit ces fibres se colorer en noir, et par ce moyen on peut les suivre avec beaucoup de facilité jusqu'au moment où elles abandonnent la gaine médullaire près de leur terminaison. A ce moment on constate l'effet de l'acide hyperosmique sur le cylindre-axe, et l'apparence fibrillaire décrite par Schultze. Cette réaction nous a permis de déterminer le point où les nerfs atteignent les corpuscules de Pacini, et le mode de terminaison de l'extrémité de la fibre dans le renflement terminal.

Les résultats les plus intéressants ont été obtenus par M. Schultze dans l'examen de la structure de la rétine; voici comment on doit l'employer dans ce dernier cas. Si on laisse macérer seulement pendant une demi-heure à deux heures, on se sert d'une solution de 1/4 à 1 partie d'acide pour 100 d'eau; si on veut laisser de dix à vingt-quatre heures on prendra la solution de 1/5 à 1/10 p. 100; on voit donc que la concentration de la solution doit être en raison inverse du temps d'action. Nous ferons remarquer que pour obtenir de bons et rapides effets de l'acide hyperosmique, il est presque nécessaire de suivre à des temps très-rapprochés l'action du réactif, et alors on trouve facilement le meilleur mode d'emploi de ce composé quant à sa concentration et à la durée de l'action sur un tissu donné.

La solution faible d'acide osmique a permis à Pflüger de suivre la terminaison des nerfs dans le foie, et leurs connexions avec les cellules enchymatiques glycogènes.

Nous nous sommes servi de l'acide hyperosmique pour examiner la terminaison des nerfs dans le bec du canard; il nous suffira d'indiquer la méthode que nous avons suivie pour montrer la manière d'utiliser ce réactif. On prend la peau du bec d'un animal fraîchement tué (nous ne saurions trop recommander de prendre toujours des organes aussi frais que possible), qu'on met dans une solution de 1 partie d'acide pour 500 d'eau, pendant quinze à vingt-quatre heures. On voit alors comme premier phéno-

mène que ce fragment de peau est *durci* suffisamment pour permettre de faire des coupes très-minces. Sur une coupe on reconnaît de suite que l'action du réactif s'est portée sur les nerfs, sur leurs organes terminaux et sur l'épiderme, qui est coloré très-fortement; le tissu connectif est contracté mais faiblement coloré; si on est dans un endroit où il y a des vésicules adipeuses, celles-ci se montrent alors sous forme de sphères complètement noires. Au lieu de laisser macérer comme nous venons de l'indiquer, on peut faire des coupes minces sur l'organe frais et les plonger, pendant un temps court dans une solution de 1/2 à 1 p. 100, et on obtient les mêmes résultats. Il y a peut-être avantage à faire ainsi, parce qu'on peut suivre l'action du réactif sous le microscope.

L'emploi de l'acide hyperosmique a un désagrément qu'il est bon de signaler, c'est qu'il donne quelquefois une opacité très-grande aux tissus, et que par suite il devient nécessaire de recourir à l'acide acétique et à la glycérine pour faire la préparation; il est cependant des cas où on ne peut agir de la sorte et où il faut absolument faire la préparation dans l'eau ou dans la solution elle-même.

Signalons comme exemple les corpuscules de Pacini du mésentère du chat sur lesquels ce réactif permet de découvrir la structure du renflement terminal de la fibre nerveuse, structure qui disparaît instantanément par l'addition d'acide acétique ou de glycérine.

410. Comme colorant et durcissant, l'acide hyperosmique a été utilisé par Eimer pour l'étude de l'épithélium de l'intestin, et des rapports des cellules dites caliciformes avec l'intérieur des villosités. Cet auteur place l'intestin dans une solution à 1 p. 100 pendant vingt-quatre heures et pratique des coupes minces.

L'emploi de l'acide hyperosmique doit certainement donner de bons effets avec une quantité d'organes, et on ne saurait trop en recommander l'usage à ceux qui veulent étudier des terminaisons nerveuses. Cependant, nous n'avons pu obtenir des résultats nets sur les nerfs des Mollusques acéphales, mais cela tient probablement à ce que nos essais concernant la concentration de la solution, n'ont pas été assez nombreux.

Lorsqu'on a traité la moelle épinière par l'acide osmique, on peut la faire durcir dans l'alcool, et pratiquer des coupes minces qui doivent être imbibées avec le carmin, de telle façon que les cellules nerveuses et les cylindres-axes se montrent colorés en rouge et la gaine médullaire des nerfs en noir. On peut utiliser très-souvent

cette double coloration c'est-à-dire que tout organe traité par l'acide osmique peut être coloré par le carmin, et il est certain que cette méthode conduira à de bons résultats.

Acide borique.

411. Cette substance a été employée récemment par Basch. La solution à 1 p. 100, agissant pendant vingt-quatre heures, fait apparaître, sur les cellules épithéliales prismatiques et sur celles de la voûte palatine et de la langue, l'aspect d'orifices arrondis.

Acide oxalique.

412. L'usage de l'acide oxalique, a été proposé par M. Schultze. Il emploie une solution saturée et froide d'acide oxalique, celle-ci rend transparent le tissu connectif. Cette solution conserverait intacts, d'après cet auteur, les éléments délicats du système nerveux. Il est en effet favorable à la recherche des cylindres-axes terminaux des nerfs dans la peau, les muqueuses, etc. M. Schultze conseille aussi la solution d'acide oxalique dans l'alcool.

M. Ranvier l'a utilisé pour faire apparaître les noyaux dans les cellules préalablement imprégnées par le nitrate argentique.

Acide tartrique.

413. L'acide tartrique en solution concentrée ou plus ou moins diluée agit sur le tissu lamineux qu'il rend transparent, à peu près comme le fait l'acide acétique étendu. Il n'attaque pas les parois propres, ni les épithéliums glandulaires qu'il rend au contraire plus grenus et plus opaques. Il peut par suite être employé avantageusement pour faire macérer les organes dont on veut étudier ensuite les petites glandes ou les grosses glandes elles-mêmes dont il rend les culs-de-sac plus faciles à observer.

Acide formique.

414. L'acide formique a été employé en solutions plus ou moins concentrées dans ces dernières années pour remplacer l'acide acétique. Il agit comme lui sur le tissu lamineux, etc.

Acide phénique.

415. L'eau contenant de 1 à 5 pour 100 ou même pour 500 d'acide phénique ne sert pas directement aux observations microscopiques, mais elle est utilisée pour conserver sans putréfaction pen-

dant des mois les organes dont on désire voir les tissus tels qu'ils sont à l'état frais. Il suffit pour cela de tenir les pièces entourées d'un linge mouillé de ce liquide dans un vase fermé, contenant en outre un peu de cette solution sur une hauteur de 1 centimètre au plus.

On peut encore placer simplement la pièce sur des étoupes ou sur un chiffon imbibé de ce mélange et tenir le tout dans un flacon bouché de manière à ce que l'acide conservateur ne s'évapore pas trop vite. (Lemaire, Lister.)

L'eau phéniquée dans la proportion de 1 à 5 parties d'acide phénique pour 1000 parties d'eau peut servir de liquide conservateur pour les coupes microscopiques des tissus végétaux. Une plus forte proportion d'acide coagule et altère la disposition du contenu azoté des cellules.

ARTICLE IV. — DE L'EMPLOI DE L'ACIDE CHROMIQUE ET DES CHROMATES DE POTASSE.

416. L'emploi de l'acide chromique en anatomie générale a été fait pour la première fois par Hannover en 1840. Depuis lors cet emploi est devenu familier à tous les anatomistes qui en font un fréquent usage. (Voy. aussi la première édition de cet ouvrage, 1849, p. 229-230.)

Il peut être utilisé comme agent inoffensif, comme altérant, colorant, dissociant et durcissant. Sous ce dernier point de vue son usage a marqué un des plus importants progrès qu'aient fait les procédés qu'exige l'étude de l'histologie, en permettant de rendre tous les tissus assez consistants pour qu'ils puissent être ramenés à l'état de coupes transparentes, permettant de constater la forme, le volume et l'arrangement réciproque réel des parties constituan-tes invisibles à l'œil nu dans la profondeur de presque tous les organes.

A. *Acide chromique considéré comme liquide inoffensif.*

417. Dans un sens absolu on ne peut considérer l'acide chromique comme liquide inoffensif; il possède pourtant la propriété remarquable et très-utilisée en micrographie de conserver les éléments très-déli-cats comme ceux du système nerveux. Il peut être considéré encore comme inoffensif en ce sens que la coagulation qu'il produit ne déforme pas considérablement les éléments soumis à son action; mais cependant, outre la coagulation produite, il y a une combinaison chimique qui amène un changement dans la

transparence des objets. Son action dans ce cas doit être décrite à propos de l'acide chromique considéré comme isolant.

On peut l'employer en solution très-faible, 1 p. 5000 p. d'eau, comme liquide remplaçant soit l'eau, soit l'eau albuminée, pour faire les préparations extemporanées, et il donne dans ce cas de fort bons résultats. Nous nous en servons journallement pour faire les préparations microscopiques quelles qu'elles soient; il faut toujours avoir sur la table de travail un flacon contenant cette solution.

B. Acide chromique employé pour isoler les éléments.

418. Pour employer l'acide chromique comme isolant, on se sert de solutions aqueuses faibles variant de 1 p. 2500 à 1 p. 5000 et on laisse macérer le tissu pendant vingt-quatre à quarante-huit heures à la température ordinaire. Il a été employé de la sorte par Deiters, M. Schultze et autres dans les investigations délicates sur les centres nerveux et les terminaisons des nerfs des organes des sens. Pflüger, Letzerich et Boll s'en sont servi avec avantage pour montrer les rapports des fibres nerveuses avec la membrane propre des glandes salivaires (Pflüger), du testicule (Letzerich), de la glande lacrymale (Boll). Nous en usons continuellement pour préparer les épithéliums délicats, et il nous a donné d'excellents résultats pour étudier les corps cyathiformes qu'on rencontre dans les organes tactiles des poissons.

Quant au mode d'application de cette solution faible d'acide chromique, il est indispensable d'apporter une grande attention à la quantité de liquide employée et à la durée de son action. Pflüger dans ses recherches sur les nerfs des glandes salivaires recommande de laisser macérer pendant vingt-quatre heures une glande sous-maxillaire de lapin, par exemple, dans une quantité d'eau suffisante pour la recouvrir, liquide auquel on ajoute 5 à 6 gouttes de solution chromique de 1 partie pour 3500 d'eau à 1 partie pour 5000. Cette méthode sert à déterminer le rapport des nerfs avec la paroi propre des culs-de-sac. Nous verrons que la même solution employée d'une façon différente constitue un moyen de durcissement.

419. Comment l'acide chromique en dissolution agit-il sur les tissus pour amener la dissociation des éléments sans les altérer? voici ce que nous pensons à cet égard:

Outre la coagulation que produit le liquide mis en contact avec un élément anatomique encore vivant, l'acide se combine avec la substance même des éléments et il se produit ici une véritable com-

binaison chimique; de là résulte un corps n'ayant plus exactement la même composition élémentaire que les tissus vivants. Cette coagulation diffère de la coagulation ordinaire produite par la mort en ce que les éléments, changés chimiquement par fixation de quelque composé chromique ne sont plus aussi facilement imprégnés par l'eau et par là même ne peuvent plus être gonflés et déformés. L'acide chromique agissant ainsi sur les éléments figurés, l'eau n'imprègne que les intervalles, et par suite la dissociation devient plus facile. Cette coagulation et cette combinaison des éléments sont la cause de la coloration légère et de l'accentuation des contours qu'on observe sur les tissus délicats, tels que les épithéliums prismatiques de l'intestin, des fosses nasales, et surtout sur les cellules glandulaires vus par lumière transmise.

La solution à 1 partie d'acide pour 5000 d'eau dissocie très-bien les cellules nerveuses de la moelle épinière; elle permet de les séparer de la masse granuleuse très-complètement, et en ménageant avec facilité les prolongements même très-déliés. M. Schultze est arrivé à montrer l'existence d'un état fibrillaire dans l'intérieur des grosses cellules nerveuses par cette méthode.

C. Acide chromique comme agent colorant.

420. On ne peut pas dire rigoureusement que l'acide chromique puisse être regardé comme colorant simplement les éléments ou tissus; toujours à côté de la coloration produite se manifestent la propriété d'isolement, ou celle de durcissement. On utilise l'une ou l'autre de ces deux propriétés combinées à celle de la coloration, suivant chaque cas spécial et selon le but qu'on se propose d'atteindre.

Un exemple fixera mieux la pensée et indiquera de suite ce dont il s'agit: Veut-on étudier les épithéliums délicats, s'altérant très-vite, et conserver leurs formes normales: deux cas peuvent se présenter: 1° on veut les voir isolés; 2° on veut les voir en place et étudier les rapports qu'ils présentent entre eux. Dans chacun de ces cas, on devra employer des solutions à des degrés divers de dilution, et surtout pendant un temps plus ou moins long.

Dans le premier cas, les solutions faibles, agissant pendant vingt-quatre heures, donneront les meilleurs résultats; dans le second, des solutions plus concentrées, agissant plus longtemps, réussiront mieux. Notons cependant que, dans la plupart des

expériences, les éléments deviennent trop opaques lorsqu'on les durcit; ils nécessitent, pour être examinés, des coupes extrêmement minces ou, à défaut de celles-ci, l'usage des moyens voulus pour rendre transparente une préparation d'une certaine épaisseur, celui de la glycérine par exemple; telle est le cas des coupes de la muqueuse nasale, de la rétine et des organes parenchymateux.

Il est cependant des circonstances dans lesquelles la coloration unie au durcissement sert à différencier entre eux deux éléments ou tissus, alors que d'autres moyens ne donnent que des résultats peu avantageux. C'est ainsi que dans la capsule surrénale durcie par l'acide chromique on distingue immédiatement la ligne de démarcation entre la substance médullaire et la substance corticale, par l'effet seul de la coloration; la substance médullaire se colore en brun foncé; la substance corticale se colore peu; or, par les autres méthodes soit de durcissement, soit de coloration, la délimitation nette entre les deux substances est très-difficile. Les faits que nous venons de signaler s'appliquent également à l'usage des chromates et de la solution de Müller.

L'emploi de l'acide chromique comme colorant est surtout utile lorsqu'on veut étudier des éléments isolés, normalement pâles, réfractant peu la lumière, facilement altérables. Il en est également qu'on voit déjà très-bien en employant, soit l'eau, soit l'iodosérum comme véhicule, qui se distinguent beaucoup mieux après une macération dans la solution chromique; à cet égard, on ne saurait trop recommander l'emploi de l'acide chromique comme colorant aux personnes qui doivent faire des démonstrations histologiques et aux commençants.

Prenons, par exemple, l'épithélium à cils vibratiles des mammifères ou de la grenouille: on voit facilement les cils quand le mouvement vibratoire existe encore; mais alors on ne distingue nettement ni la base des cellules portant les cils, ni toujours les cils eux-mêmes; si on isole les cellules, il faut déjà une certaine habitude du maniement du microscope et surtout des effets de lumière pour bien saisir les filaments vibratiles avec tous leurs caractères; il est surtout souvent difficile de les montrer à des personnes inexpérimentées. Si on fait macérer la muqueuse dans l'acide chromique, le tout devient aisé à voir, et on peut même employer la glycérine comme véhicule, ce qui permet en outre de faire des préparations bonnes à conserver pendant un temps plus ou moins long.

Ces données s'appliquent également à l'épithélium des fosses nasales, dans lequel on distingue alors parfaitement les caractères décrits par Schultze; l'épithélium intestinal, les cellules nerveuses, etc., sont dans le même cas.

421. Nous devons examiner ici sur quelles parties se fixe principalement l'acide chromique comme colorant et coagulant, car nous croyons que le résultat obtenu est dû à ces deux propriétés du réactif. L'acide chromique et les chromates en général se fixent plutôt sur tel élément que sur tel autre, suivant la constitution intime de chacun. La preuve de l'exactitude de cette manière de voir est facile à donner: si on examine l'action de l'acide chromique sur l'épiderme on constate que les cellules les plus superficielles sont peu ou pas colorées, tandis que les cellules profondes et surtout celles dites du corps muqueux sont fortement influencées par le réactif, à tel point, que les cellules les plus profondes, pour être examinées, nécessitent des coupes très-minces rendues transparentes par différents véhicules.

Nous pourrions ajouter que plus les éléments se montrent granuleux à l'état frais, plus ils fixent l'acide chromique et même ils sont d'autant plus attaqués qu'ils se rapprochent davantage de l'état embryonnaire. Nous avons du reste constaté également ce fait sur les cellules des cartilages de certains animaux non entièrement adultes, lorsqu'on les examine près du périchondre, et là encore l'acide chromique permet de distinguer nettement la limite séparant le cartilage proprement dit du tissu lamineux du périchondre. Il faut encore signaler que, dans les éléments où le noyau a disparu, dans les cellules épidermiques superficielles par exemple, la coloration est presque nulle.

Si nous traitons des éléments nerveux, les cellules surtout, avec l'acide chromique modérément concentré, nous voyons de suite que, comme pour la coloration par le carmin, le noyau est la première partie affectée, il devient beaucoup plus granuleux qu'à l'état normal; le nucléole reste transparent. Si la macération se prolonge, le corps de la cellule devient lui-même granuleux et se colore; le nucléole au contraire reste toujours transparent et incolore.

Une des actions manifestes de l'acide chromique comme colorant se fait sentir sur les muscles de la vie de relation qu'il rend plus opaques, et chez lesquels les stries transversales ou longitudinales se montrent avec beaucoup de netteté.

Remarquons ici que l'acide chromique est un des meilleurs réac-

tifs pour montrer la décomposition possible des faisceaux striés en fibrilles. La macération dans la solution chromique, ou dans celle dite de Müller, est aussi très-bonne pour vérifier les travaux de Conheim sur les fibres musculaires; elle remplace parfaitement le sérum, le sel de cuisine et l'acide acétique faible.

D. Acide chromique employé comme altérant.

422. L'acide chromique employé comme altérant peut agir de plusieurs façons.

Un premier cas se présente, c'est celui où l'acide chromique agit comme les acides chlorhydrique, acétique, etc., sur les substances calcaires, tant à l'état de carbonates qu'à l'état de phosphates, soit en dégagant l'acide carbonique et se substituant à lui, soit en dissolvant les phosphates. Cette propriété est utilisée en microscopie pour enlever la substance calcaire, des os, par exemple, et des incrustations ou dépôts calcaires pathologiques. L'acide chromique teint en jaune la substance organique qu'il laisse, comme il le fait pour toutes les substances analogues.

Un second cas est celui dans lequel l'acide chromique sert d'isolant, c'est-à-dire permet de dissocier avec facilité des éléments qui, normalement, sont très-adhérents et très-peu séparables, sans leur faire subir de graves altérations, par exemple, les cellules nerveuses. Ce fait est-il dû à l'acide chromique lui-même? nous ne le croyons pas et nous serions tentés de dire qu'ici l'action isolante est due, comme nous l'avons vu plus haut, à l'imbibition de certaines substances par l'eau, l'acide chromique se fixant peu ou lentement sur elles.

Nous retrouvons encore l'acide chromique comme altérant, lorsque nous examinons l'influence de différents autres réactifs sur des substances ayant préalablement macéré dans sa solution. Le tissu connectif nous en offre un exemple curieux. On sait que ce tissu, traité par l'acide acétique, est rendu homogène; or ce même tissu, traité antérieurement par l'acide chromique, est difficilement attaqué par l'acide acétique, l'acide sulfurique étendu, etc., et encore faut-il, pour que cette action ait lieu, que celle de l'acide chromique ait été passagère.

E. Acide chromique comme durcissant.

425. L'usage de l'acide chromique comme durcissant doit être considéré sous plusieurs rapports. Nous parlerons en premier lieu d'une méthode particulière peu employée jusqu'à ce jour et que nous considérons comme très-importante, à cause de son utilité

pour étudier des parties molles, dont les éléments sont facilement altérables et qu'on veut observer dans leur état presque normal.

Pflüger est le premier, croyons-nous, qui ait érigé en méthode, l'usage de l'acide chromique faible comme durcissant. Il a suivi, à l'aide de ce réactif, les nerfs des glandes salivaires quant à leur rapport avec les cellules épithéliales. Après lui, Boll et Letzerich ont employé la même méthode pour étudier les nerfs des glandes lacrymales et du testicule; nous avons nous-mêmes procédé ainsi pour examiner des épithéliums délicats et des terminaisons nerveuses, et toujours avec de bons résultats. Nous ne saurions faire mieux que de décrire le procédé de Pflüger, en indiquant les précautions indispensables pour réussir dans certains cas énoncés avec beaucoup de soin par ce savant. Pflüger a employé l'acide chromique de la façon suivante : les animaux dont il veut étudier les glandes salivaires sont tués par hémorrhagie, par section des vaisseaux du cou pour ne pas avoir de convulsions; les glandes sont enlevées avec précaution, de façon à ne leur faire subir aucun tiraillement et placées ensuite dans la solution chromique, dans un flacon bien bouché. La solution employée est celle de 1 partie pour 3500 à 5000 parties d'eau; 6 à 8 gouttes sont versées sur une glande salivaire (sous-maxillaire) du lapin mise dans l'eau. Cette donnée peut servir à évaluer la quantité nécessaire pour un autre organe, si toutefois cependant il n'est pas trop volumineux. On laisse agir pendant une à deux heures; au bout de ce temps, dans le plus grand nombre des cas, les glandes sont suffisamment dures pour qu'on puisse y pratiquer des coupes même très-minces. On dissocie ensuite celles-ci avec précaution en faisant aussitôt la préparation avec de nouvelles parties de la solution chromique. Il faut éviter toute espèce de compression, et on y arrive en plaçant sous le verre mince des bandelettes de papier qui ne peuvent servir qu'un petit nombre de fois parce qu'elles s'imprègnent d'acide chromique et, par là, renforcent la solution dans les dernières préparations pour l'examen desquelles on en fait usage.

424. Les solutions variant de 1 partie d'acide chromique pour 100 et jusqu'à 1000 parties d'eau sont celles dont on use essentiellement comme agent durcissant proprement dit; on place dans cette liqueur des fragments peu volumineux du tissu à étudier, en commençant par une solution faible; au bout de deux à trois jours on les met dans une liqueur plus concentrée. Les pièces peuvent rester indéfiniment dans la solution chromique; mais alors, pour