

empêcher la formation des moisissures, on ajoute quelques gouttes d'alcool camphré, de benzine ou d'acide phénique. Au lieu de laisser les pièces dans l'acide chromique indéfiniment, on peut les retirer au bout de quinze à vingt jours et les conserver dans l'alcool médiocrement concentré.

Il est important de n'employer que des fragments de tissus peu volumineux, car, s'ils sont trop gros, l'acide chromique ne pénètre pas dans leur intérieur; on trouve alors la couche superficielle durcie et le centre complètement altéré et ramolli; on a conseillé, dans le cas où on veut durcir des pièces volumineuses, de les injecter préalablement avec la solution chromique.

425. Bien que les chromates de potasse ne rentrent pas dans le groupe des agents chimiques acides dont traite ce chapitre, nous pensons qu'il est utile de parler ici de leur emploi, pour mieux faire ressortir les analogies et les différences que présente leur action comparativement à celle de l'acide chromique.

F. *Bichromate ou chromate rouge de potasse.*

426. Le bichromate potassique possède toutes les propriétés de l'acide chromique et tout ce qui a été dit précédemment de l'utilité de ce dernier s'applique à celui-là. Ce sel employé seul en solution dans l'eau est isolant quand la solution est faible, et on met cette propriété en usage pour étudier les cellules nerveuses, la rétine, etc.

Comme l'acide chromique, il est colorant, et, comme tel, il peut être utilisé exactement dans les mêmes cas que lui.

Comme durcissant, le bichromate potassique peut être employé en solution faible ou en solution relativement concentrée. Ici les règles données à propos de l'acide chromique sont tout à fait applicables.

Solutions faibles : 1/2 à 1 partie de sel pour 100 parties d'eau.

Solution plus concentrée jusqu'à 5 parties pour 100 parties d'eau.

Le bichromate potassique peut être mis en usage seul ou associé à d'autres substances comme par exemple le sulfate de soude (liquide ou liqueur de Müller).

Eau . . . . .	100 parties.
Bichromate potassique solide . . . . .	2 à 5 —
Sulfate de soude . . . . .	1 —

Cette solution de Müller conserve parfaitement les éléments nerveux, ceux surtout de la rétine et les éléments glandulaires. Ivanoff a

porté à 2 p. 100 la quantité de sulfate de soude pour conserver aussi longtemps qu'on le veut les yeux et les organes nerveux sur lesquels on pratique ensuite les coupes, lorsqu'il est besoin de les étudier. Pour les yeux des grands mammifères et les grosses pièces, il faut réduire la quantité d'eau à 80 parties pour que le durcissement et la conservation soient convenables. On a ainsi un des meilleurs liquides conservateurs de laboratoire et des plus faciles à manier, surtout pour la conservation des tissus morbides.

Nous nous servons habituellement des solutions de bichromate de préférence à celle de l'acide chromique parce qu'il nous a paru donner de meilleurs résultats.

*Chromate neutre ou chromate jaune de potasse.*

427. Ce chromate de potasse peut être utilisé comme le précédent, mais il faut l'employer à dose de moitié à 1 ou 2 fois plus forte. On obtient un liquide très-convenable pour durcir tous les nerfs périphériques et les ganglions destinés à être préparés en coupes minces en mettant 2, 3 ou 4 parties de ce sel et 2 parties de sulfate de soude dans 100 ou 80 parties d'eau.

428. Nous nous sommes servi également d'une solution de chromate neutre potassique acidifiée, et voici une formule qui, pour le durcissement, nous a donné des résultats satisfaisants.

Eau distillée . . . . .	200 parties.
Chromate jaune de potasse . . . . .	2 à 5 —
Acide nitrique . . . . .	1 —

C'est là en fait un mode d'association du nitrate de potasse et de l'acide chromique. Ce mélange est des plus favorables au durcissement et à la mise en évidence des terminaisons nerveuses dans les muqueuses des organes des sens de l'homme et des divers animaux vertébrés et invertébrés.

ARTICLE V. — DES LIQUIDES ALCALINS SERVANT COMME MOYEN D'ÉTUDE ET POUR LES PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES.

*Potasse.*

429. On emploie la potasse en bâton du commerce, en solution concentrée ou étendue dans une plus ou moins grande quantité d'eau. En général, on ne tient pas compte de la quantité de carbonate qui s'y produit par absorption de l'acide carbonique de l'air; il est cependant nécessaire de la conserver dans des flacons bien



bouchés. Les effets de la potasse sont variables surtout à cause des degrés de concentration de la solution.

Les dissolutions de potasse attaquant rapidement les bouchons de liège ainsi que les bouchons de verre qu'elle soude au goulot du flacon, il faut l'avoir en petits morceaux dans un flacon bien clos dont elle ne touche pas le bouchon. L'on prend ensuite un des petits fragments pour en faire la solution toutes les fois qu'on en a besoin, soit dans un verre à expérience, soit sur le porte objet suivant les nécessités de son emploi.

450. La potasse considérée comme réactif en histologie est isolante, altérante, ou dissolvante.

Son action sur les cellules de l'ongle est altérant et à la fin dissolvante; en effet, si on place un fragment d'ongle dans une solution concentrée de potasse, on voit les cellules se gonfler et se montrer sphériques avec leur noyau, plus tard grâce à l'action prolongée, elles tendent à disparaître. Elle agit de même, mais plus rapidement sur les diverses sortes de cellules épidermiques.

La solution généralement employée est de 55 p. de potasse pour 100 d'eau et le temps d'action est d'un quart d'heure à une demi-heure.

Cette méthode sert à isoler les éléments nerveux, même délicats comme les cellules olfactives d'après la méthode de M. Schultze.

Pflüger et Boll s'en sont servis récemment pour chercher la terminaison des nerfs dans les glandes en grappe. Pflüger dit de laisser les glandes salivaires dans la solution de potasse pendant une demi-heure et on reconnaît que la réaction est à point, à la coloration brune que prennent les tissus; il ajoute que pour s'assurer du temps suffisant d'action, il faut examiner les artères dont les muscles lisses sont alors très-nettement limités et brillants. Il donne, avec Paulsen, ce moyen comme le plus facile pour rendre évidents les fibres-cellules et leurs granules.

En dissolution faible, la potasse tend à dissoudre les éléments sur lesquels on l'applique. Nous aurons à parler plus loin de son emploi fréquent en histologie végétale.

#### *Soude caustique.*

451. L'usage de sa solution concentrée n'a aucun avantage sur celui de la solution potassique. Dans un liquide composé de 40 parties de soude en poids, pour 100 d'eau, les tissus musculaires, dermique, etc., deviennent plus transparents ce qui permet de mieux suivre les tubes nerveux.

La solution de soude sus-indiquée ou même de carbonate de soude à des degrés de concentration que l'expérience apprend à déterminer rend transparents beaucoup de tissus et en particulier ceux des embryons de vertébrés et d'invertébrés. Comme d'autre part elle n'attaque pas les pièces squelettiques calcaires ou chitineuses de ces animaux, elle est d'un grand secours dans l'étude de ces parties en voie d'évolution. Les pièces peuvent être ensuite conservées dans l'alcool un peu étendu d'eau qui n'enlève plus leur transparence aux tissus ainsi traités. C'est de la sorte que Carpenter a préparé et conservé les embryons des Comatules (*Apiocrynites*, *Actinocrynites*, etc.) qui ont été l'objet de ses belles recherches.

#### *Mélange d'alcool et de soude.*

452. Beale a obtenu des effets remarquables avec un mélange de 8 à 10 gouttes d'une solution concentrée de soude caustique avec 50 grammes d'alcool. Beaucoup de tissus y acquièrent peu à peu un durcissement considérable et de la transparence. Ce mélange convient plus particulièrement dans les recherches sur les dépôts calcaires des productions pathologiques, des ossifications embryonnaires, etc. Sous l'influence de ce liquide, les tissus les plus délicats et les plus variés deviennent transparents, sans qu'il se manifeste le moindre changement dans les productions calcaires. On parvient ainsi à apercevoir avec beaucoup de facilité les moindres points d'ossification. Un embryon, par exemple, qui a séjourné pendant quelques jours dans ce mélange se conserve ensuite très-bien dans l'alcool. Beale s'en est servi avec avantage dans les recherches qu'il a faites sur le foie.

#### *Ammoniaque liquide.*

453. L'ammoniaque liquide est utilisée en micrographie dans les mêmes cas que la soude et la potasse, seulement son action est un peu moins énergique. On s'en sert surtout pour donner de la transparence à certaines préparations épaisses, etc.

Elle sert à dissoudre le carmin et peut être également employée pour neutraliser des acides qu'on aurait introduits dans une préparation comme par exemple lorsqu'on agit par l'acide acétique sur le tissu lamineux et qu'on veut faire reparaitre les fibrilles qui avaient disparu. L'ammoniaque sert aussi de réactif pour distinguer les leucocytes, qu'elle dissout rapidement, des épithéliums qu'elle ne fait que pâlir ou n'attaque même presque pas.



Dujardin a montré qu'on peut s'en servir d'une manière analogue et très-utilement dans l'étude des infusoires, pour dissoudre certaines parties de leur corps, leurs cils, etc., à l'exclusion des autres parties, telles que les téguments et pièces squelettiques. Elle peut être utilisée dans le même but pour l'étude des articulés microscopiques, tels que les Rotifères, les embryons des crustacés, etc., dont elle dissout les cils, les parties molles, dissocie les amas de gouttes grassieuses, puis laisse intacts les téguments et autres organes chitineux.

L'ammoniaque est par suite très-employée dans les études de ce genre pour mettre en évidence un certain nombre de dispositions anatomiques difficiles à voir et pour résoudre directement ou non des questions touchant la nature et les propriétés physiologiques de divers êtres microscopiques.

C'est ainsi par exemple qu'elle fait cesser les mouvements des diverses sortes d'Oscillaires colorées ou incolores, des Navicules, des zoospores des algues dont elle dissout les cils, sans attaquer leur enveloppe hyaline, qu'elle rend plus évidente; elle reste au contraire sans influence sur le mouvement brownien des granulations moléculaires diverses qu'on trouve dans presque toutes les préparations de ces divers corps et autres. Elle immobilise aussi les *Spirillum*, les *Vibrio catenula*, les bactéries sans les dissoudre alors qu'elle dissout les *Monas*, les *Amibes*, comme les infusoires animaux bien déterminés, ainsi que les spermatozoïdes.

ARTICLE. VI. — DES SOLUTIONS SALINES SERVANT COMME MOYEN D'ÉTUDE ET DE PRÉPARATION DES ÉLÉMENTS ANATOMIQUES ET DES TISSUS.

454. On peut dire d'une manière générale que les solutions salines neutres, à bases alcalines servent rarement en anatomie générale, mais il n'en est pas de même de divers sels à base métallique.

*Chlorure de sodium.*

455. En dehors des cas où l'on se sert de la solution plus ou moins concentrée de ce sel comme moyen de conservation des tissus, elle n'est guère employée que comme réactif dans l'étude des hématies, des leucocytes, et des infusoires. Seule ou mêlée d'eau sucrée, de blanc d'œuf elle sert parfois à conserver pendant quelques jours les préparations fraîches de ces éléments et d'autres. Cohnheim l'a choisie pour étudier les muscles striés. 1 à 4 par-

ties de chlorure de sodium, en poids, 5 à 6 parties de blanc d'œuf, avec 50 à 50 parties d'eau, forment un *sérum artificiel* utile pour ces diverses études. (Voyez aussi p. 241, 275 et 277.)

*Sulfate et phosphate de soude.*

456. Leurs solutions servent comme celles du chlorure de sodium de réactif dans l'étude de quelques éléments tels que les leucocytes qu'elles resserrent sans les altérer à proprement parler. Elles conservent aussi les hématies sans les modifier notablement quand on prend une solution de 10 p. 100 de sel au moins pour 100 d'eau.

*Chlorure de calcium et chlorure de zinc.*

457. La solution de chlorure de calcium, proposée par Strauss-Durckheim pour la préparation et la conservation des muscles des insectes dans la proportion de 1 partie sur 5 d'eau, est parfois employée dans quelques recherches spéciales sur les fibres musculaires. C'est surtout comme liquide conservateur des préparations des tissus végétaux qu'elle est utilisée. La solution adoptée généralement est celle de Schacht à 1 partie de sel pour 5 d'eau.

La solution de chlorure de zinc s'emploie dans les mêmes proportions et dans les mêmes circonstances.

*Azotate d'argent.*

458. Tous les observateurs qui ont connu F. Dujardin savent qu'il se servait non-seulement de l'acide azotique et de la teinture d'iode pour colorer les tissus et les substances albuminoïdes des animaux et des plantes, pour distinguer leurs parties les unes des autres, mais encore de l'azotate d'argent, du nitrate acide de mercure et du chlorure d'or. Aussi est-on étonné de voir que dans son manuel du microscope il n'entre dans aucun des détails qu'il signalait en montrant ses préparations, et qu'il se borne à dire que : « Les sels d'or, d'argent et de mercure pourront aussi, dans certains cas, être employés pour colorer fortement des tissus animaux ou végétaux et rendre leur étude plus facile. » (*Observateur au microscope*. Paris, 1845, in-12, p. 69.)

459. Le nitrate argentique n'a été beaucoup employé dans ces dernières années que depuis les travaux de His, Coccius, et von Recklinghausen.

Au contact des éléments anatomiques il se décompose et passe à l'état de chlorure d'argent, ce même chlorure soumis à l'action



de la lumière se décompose, et laisse l'argent libre à l'état métallique; de là, la coloration produite par le nitrate d'argent. Mais, à côté de cette propriété de coloration, il ne faut pas oublier qu'au contact des tissus il les coagule et les durcit. Au premier abord, en examinant l'action de ce réactif sur les cellules épithéliales, on est tenté de croire qu'il n'agit que superficiellement, que la surface seule est atteinte, imbibée par le liquide, et cela se comprendrait grâce à l'action coagulante de l'acide du sel d'argent qui rend nécessairement l'imbibition profonde difficile; mais les recherches de Grandry sur le système nerveux ont prouvé que l'action du réactif ne se borne pas à la surface et qu'il agit dans la profondeur des éléments; comment en effet expliquer que dans certains cas, en agissant sur les cellules nerveuses avec le nitrate d'argent, on puisse trouver une de ces cellules complètement divisée en deux parties par un plan coloré passant à travers toute l'épaisseur du corps de celle-ci. Les mêmes faits se constatent sur le cylindre-axe.

Nous croyons que l'action plus ou moins pénétrante du nitrate argentique est liée à la manière dont on l'emploie et surtout au temps pendant lequel on laisse agir la solution dans l'obscurité, c'est-à-dire quand on n'a pas une couche d'argent métallique s'opposant à l'imbibition. Il y a par suite deux manières d'employer le nitrate d'argent; une première consiste à exposer les objets à la lumière en même temps qu'on fait agir la solution argentique; dans une seconde au contraire, on laisse à l'obscurité la préparation pendant un temps plus ou moins long, puis ensuite on la soumet à l'influence de la lumière.

L'application la plus habituelle de l'azotate d'argent est faite à l'étude des épithéliums délicats, et a surtout pour résultat de faire voir les épithéliums des vaisseaux capillaires, des conduits biliaires (Ch. Legros), etc.

Les règles à suivre pour se servir avantageusement du nitrate argentique soit dans l'étude des épithéliums, soit dans celle du tissu connectif, sont difficiles à donner d'une façon précise. Von Recklinghausen recommande des solutions faibles (1 partie pour 400 parties d'eau, pour 600 ou pour 800).

His a exposé à la lumière des coupes de cornée imprégnées de nitrate d'argent et placées dans une solution de sel de cuisine, d'acétate d'ammoniaque ou d'humeur aqueuse.

Recklinghausen recommande pour obtenir de bons effets une

solution faible de sel de cuisine. His au contraire recommande une solution concentrée.

Ch. Schmidt s'est servi avec avantage de la solution à 1 p. 500 pour étudier l'épithélium pulmonaire en prenant des organes tout à fait frais. M. Legros a réussi à montrer très-bien les épithéliums vasculaires en injectant dans les vaisseaux soit de la glycérine, soit une solution de gélatine à laquelle il ajoutait une petite quantité d'azotate d'argent (1 pour 400). Cet habile anatomiste a prouvé en outre que ce moyen fait voir fréquemment les fibres-cellules des vaisseaux avec leurs contours aussi accusés que ceux des épithéliums. Il signale le nitrate argentique comme un des meilleurs moyens pour démontrer la forme et les rapports réciproques des fibres-cellules. Injecté dans les tubes des glandes en grappes, il en met également bien en évidence les épithéliums.

Arnstein s'est servi du nitrate d'argent pour montrer les cellules dites caliciformes de l'intestin; voici comment on peut procéder dans ce cas chez la grenouille par exemple: il suffit d'enlever un fragment d'intestin, de le remplir d'une solution argentique au 400<sup>e</sup>, puis de l'ouvrir au bout de quelques minutes et de le laisser exposé à la lumière.

Une remarque à faire à propos des épithéliums traités par le nitrate argentique, c'est qu'il amène la disparition des cils si on agit sur l'épithélium vibratile.

Fromman, a déterminé à l'aide du nitrate d'argent, la disposition de la substance amorphe interposée aux tubes de la moelle épinière et en se servant d'organes congelés. Il signale aussi son action sur le cylindre-axe.

440. Nous avons employé ce sel de la façon suivante:

Les organes à étudier sont enlevés aussitôt que possible après la mort, et alors plongés dans une solution de nitrate argentique cristallisé au 400<sup>e</sup>. Nous ferons remarquer ici qu'il est important de toujours prendre les organes très-frais, pour ainsi dire vivants lorsqu'on veut obtenir de bons résultats d'argent, quelle que soit du reste la méthode employée. Après l'immersion dans la solution argentique nous plaçons les pièces dans l'obscurité pendant un temps plus ou moins long; puis nous exposons à l'action de la lumière; l'intensité de celle-ci a une grande influence, et les résultats sont toujours obtenus beaucoup plus rapidement et plus sûrement par une lumière intense. La concentration de la solution argentique a aussi son importance



pour nous ; dans nos recherches sur le système nerveux la solution au 400<sup>e</sup> nous a semblé la meilleure, cependant on peut réussir avec des solutions plus concentrées ou plus faibles. Fromman a employé la solution au 300<sup>e</sup> pour les nerfs. Par cette méthode on obtient une striation particulière sur le cylindre-axe, et sur les cellules nerveuses. Dans celles-ci le noyau reste incolore et visible sous forme d'une tache blanche. (Voy. Grandry, *Journal d'anatomie et de physiologie*, 1869 ; p. 291, pl. XI.)

M. Ranvier a fait l'application du nitrate argentique à l'étude des productions pathologiques, et voici les règles qu'il donne à ce propos. Il faut que la tumeur ait été enlevée sur le vivant et qu'elle soit étudiée peu d'heures après son extirpation. Avec un rasoir mouillé dans l'eau distillée on pratique des sections bien nettes et comprenant des blocs qui sont immédiatement placés dans une solution au 300<sup>e</sup>. Au début de l'imprégnation, il est bon d'agiter la portion de tumeur avec un instrument non métallique, de manière à chasser le dépôt qui forme un nuage à la surface de la pièce. Au bout de quelques minutes, l'imprégnation est obtenue et se traduit par une coloration noirâtre, s'il y a eu exposition au soleil. Cette dernière condition est favorable, mais non indispensable. On retire alors la pièce, on la lave à l'eau distillée, et avec le rasoir mouillé dans l'eau distillée on pratique une section qui doit comprendre la couche imprégnée seulement. Cette section est rendue très-facile parce que le nitrate d'argent ayant durci toutes les parties qui ont été imprégnées, la main de l'opérateur se trouve guidée. Les coupes ainsi obtenues sont placées dans la glycérine ; exposées de nouveau à la lumière solaire, elles peuvent être ensuite colorées au carmin et soumises à l'action de l'acide oxalique ; on peut aussi les placer dans du micro-carminate d'ammoniaque.

M. Ranvier donne en même temps un procédé pour faire apparaître les noyaux dans les tissus imprégnés d'abord par le nitrate d'argent. Pour arriver à ce but, il faut après avoir imprégné la préparation la colorer dans une solution de carmin dont l'ammoniaque a été neutralisée par l'acide oxalique, la laver à l'eau distillée et l'examiner, soit dans une solution d'acide oxalique à 5 parties d'acide pour 100 d'eau, soit dans un liquide formé de glycérine et de la solution précédente à parties égales.

### *Chlorure d'or.*

441. On emploie généralement comme sel d'or dans les recherches microscopiques le chlorure d'or, mais on peut cependant le remplacer par le sel double soit d'or et de potassium, soit d'or et de sodium ; nous avons obtenu dans ces cas les mêmes réactions qu'avec le sel d'or simple, et il y a avantage à se servir des sels doubles, parce que ceux-ci se rencontrent dans le commerce à l'état de pureté plus parfaite.

Les sels d'or ont été utilisés dans ces dernières années par Cohnheim et autres observateurs pour suivre la terminaison des nerfs ; les résultats les plus intéressants ont été obtenus sur la cornée, les muscles viscéraux et la peau.

Cohnheim, pour étudier les nerfs avec le chlorure d'or, place les organes pendant un certain temps dans la solution aurique, puis les lave à l'eau et les place ensuite dans l'acide acétique.

Kölliker a modifié la méthode de Cohnheim et procède de la façon suivante : il place la cornée dans une solution aurique de 1/4 à 1/2 p. 100 et la laisse à l'obscurité pendant 5/4 à une heure, puis la met dans l'eau et l'expose à la lumière pendant un à deux jours.

Langerhaus, en suivant le procédé de Cohnheim, est arrivé à déterminer la terminaison des nerfs dans la peau de l'homme.

Nous nous sommes servis du chlorure d'or et de potassium pour étudier la terminaison des nerfs dans les corpuscules de Pacini et dans la peau du bec du canard, et voici ce que nous avons obtenu. L'épiderme se colore très-fortement et devient presque complètement opaque, des dépôts d'or réduit en grande quantité se trouvent dans le tissu connectif, les troncs nerveux sont très-colorés en violet foncé, et on peut s'assurer que c'est le cylindre-axe qui est coloré, ce que démontrent du reste les recherches de Cohnheim et autres. Quant aux corpuscules terminaux on voit, lorsque l'action n'est pas trop intense, la fibre centrale teintée en violet sous forme d'une ligne nettement limitée ; mais lorsque l'action est prolongée, tout le centre du corpuscule de Pacini devient fortement coloré en violet, de telle façon qu'on pourrait croire que tout le centre est l'épanouissement de la fibre nerveuse qui alors se montre sous forme de pédicule.

Gerlach s'est servi du chlorure d'or pour l'étude des centres nerveux, voici comment il procède : un morceau de moelle ou de cerveau est placé dans une solution de 1 à 2 p. 100 de bichromate am-



monique et y est laissé pendant trois à six semaines. On pratique des coupes minces qui sont placées dans une solution de 1 partie de chlorure d'or et de potassium dans 10,000 parties d'eau acidulée avec de l'acide acétique ou de l'acide chlorhydrique, et on trouve après dix à douze heures la substance blanche colorée en lilas, la substance grise au contraire est restée incolore. Après cela cet auteur fait subir aux coupes une préparation spéciale pour les placer dans le baume du Canada. Par ce procédé les cellules nerveuses sont peu colorées. Pour les rendre plus apparentes, Gerlach place les coupes dans une solution de chlorure d'or additionnée d'une solution faible d'azotate d'uranium ou de chlorure de palladium et les y laisse pendant cinq à six heures.

*Azotate d'uranium.*

442. Kukchin s'est servi de l'azotate d'uranium pour étudier les glandes lymphatiques et les autres glandes sans conduits excréteurs. On place l'organe dans une solution aqueuse à 5 à 10 parties de sel pour 100 d'eau, puis on les place dans une solution aqueuse de 1 p. 100 de cyanure ferroso-potassique pendant cinq à quinze minutes. On pratique ensuite les coupes voulues pour l'examen de la structure de ces organes.

*Chlorure de palladium.*

443. Le chlorure de palladium a été préconisé dernièrement par F. E. Schultze, qui l'a surtout appliqué à l'étude du muscle ciliaire.

Il faut lui ajouter 4 à 6 gouttes d'acide chlorhydrique par litre d'eau; une petite quantité d'acide libre est du reste nécessaire pour l'examen d'organes constitués principalement par du tissu connectif.

La solution employée généralement est 1 partie de sel pour 800 parties d'eau. On place dans le liquide des morceaux de tissus frais de la grandeur d'un haricot; l'action est généralement obtenue au bout de deux à trois jours, mais on peut laisser macérer plus longtemps sans inconvénient.

On voit que le résultat est tel qu'on doit le désirer, quand les tissus ont acquis la consistance qui permet de faire des coupes facilement; il y a d'un tissu à l'autre une coloration jaune ou brune foncée. Le contenu granuleux des éléments se colore partout en jaune foncé ou brun, les muscles lisses en jaune paille, les muscles striés en jaune brun et les tubes nerveux à moelle en

noir d'encre; le tissu lamineux reste incolore; on peut cependant le colorer ultérieurement par le carmin, de sorte que l'assortiment des deux méthodes de coloration rende encore plus nette la différenciation optique des tissus.

Il faut avoir soin de traiter les coupes pendant plusieurs heures par l'eau distillée pour enlever l'excès de chlorure de palladium, sans cela le tout serait coloré en noir uniforme lorsqu'on aurait mis la préparation dans la glycérine.

Il est à remarquer qu'il y a certains tissus dans lesquels la pénétration du liquide est difficile: tels sont le système nerveux central, les épithéliums stratifiés, et surtout les tissus cornés.

*Sulfate de fer et Cyanure ferrico-potassique; etc.*

444. Leber a préconisé les précipitations métalliques dans l'intérieur des tissus en faisant agir une première substance sur un organe, puis ajoutant une nouvelle solution d'une substance formant un précipité avec la première.

Il s'est servi de la méthode suivante pour la cornée des grenouilles: on place cet organe pendant cinq minutes dans une solution de 1/2 à 1 p. 100 d'un sel ferreux, puis, dans une solution de cyanure ferrico-potassique. On teint aussi en bleu la substance intermédiaire et on laisse incolore les cellules, les canaux et les nerfs.

Il conseille aussi le sulfate de cuivre et d'ammoniaque (2 p. 100); on traite ensuite par le cyanure ferrico-potassique (5 p. 100): ce qui donne une coloration brun rouge.

A côté de ces substances Leber parle encore de beaucoup d'autres précipitations métalliques peu utiles du reste. (Voy. *Arch. für. pathologischen Anatomie*, XIV, 3, 500-516.)

*Perchlorure de fer.*

445. Le perchlorure de fer a été employé comme durcissant pour la rate par Billroth, mais on choisit maintenant de préférence pour cet organe l'alcool et l'acide chromique. M. Vulpian (1856) l'a proposé comme agent durcissant et conservateur des tissus nerveux.

On peut s'en servir pour coaguler le sang dans les vaisseaux, de façon à obtenir pour ainsi dire les capillaires injectés naturellement; ce procédé est applicable à l'étude de certaines tumeurs érectiles, du tissu pulmonaire sain ou malade de l'homme, et de divers animaux. Les solutions employées sont faites à l'aide du



perchlorure de fer médicinal étendu d'eau, jusqu'à ce qu'il ait la couleur du vin de Malaga. En deux ou trois heures le durcissement peut être suffisant pour qu'il soit possible de pratiquer des coupes du tissu. Plus étendu d'eau encore, il peut servir à la conservation des pièces pathologiques dont il ne rétracte pas les éléments, telles sont les tumeurs d'origine épithéliales, glandulaires, etc.

*Chlorure mercurique (deuto-chlorure ou bichlorure de mercure, sublimé).*

446. Ce sel autrefois employé en solution aqueuse ou alcoolique à divers degrés de concentration pour durcir les tissus nerveux, dont il permet ensuite de voir aisément le cylindre-axe, n'est que rarement utilisée actuellement. Il sera question de ce corps dans la section suivante, en tant que liquide conservateur utilisé seul ou associé au chlorure de sodium.

ART. VII. — DES AGENTS ESSENTIELLEMENT COLORANTS.

447. Parmi les éléments anatomiques de chaque tissu il en est qui sont réfractaires à toute action tinctoriale, tandis que d'autres s'imprègnent de certaines matières colorantes; d'où résultent des différences très-nettes entre eux. C'est pourquoi les colorations sont d'un grand secours dans les recherches histologiques, comme l'a montré le professeur Gerlach.

*Teinture ammoniacale de carmin.*

448. Le carmin, à l'état de dissolution, est l'agent colorant par excellence, dont l'usage en anatomie a été introduit par Gerlach en 1858. Grâce à cette propriété, il différentie les éléments en colorant les uns et non les autres; il est donc isolant comme l'acide acétique lorsque celui-ci, en rendant homogènes, hyalines les fibrilles du tissu lamineux, laisse voir les fibres élastiques dans la peau, les séreuses, etc.

Le carmin agit principalement d'abord sur les noyaux, puis ensuite sur tous éléments dont le corps est granuleux comme les cellules nerveuses, etc. On l'emploie donc pour colorer ces espèces d'éléments, pour distinguer parfaitement les glandes dans le tissu connectif, pour juger dans certains cas du degré d'altération d'une cellule épithéliale glandulaire d'après la facilité avec laquelle elle se colore par le carmin. Quand, en effet, les granulations intra ou extra-cellulaires sont grassieuses, elles ne fixent

que peu ou pas le carmin, et dans ce cas lorsqu'on ne voyait plus le noyau d'une cellule, celui-ci apparaît immédiatement.

449. Il importe de n'employer que les dissolutions peu riches en ammoniacale. Celles qui réussissent le mieux doivent être préparées ainsi qu'il suit :

On prendra quelques centigrammes de carmin, qu'on mêlera à une trentaine de grammes d'eau distillée, puis on y ajoutera quelques gouttes d'ammoniacale. Une partie du carmin est dissoute et traverse le filtre avec tout le liquide. Une autre portion non dissoute reste sur le filtre et peut être employée à divers usages. Il est bon de laisser la solution une demi-journée et même une journée entière à l'air sous une cloche, afin de faire volatiliser toute l'ammoniacale. Si, au bout de quelque temps, on remarque qu'il s'est formé un précipité granuleux de carmin, il suffira d'ajouter une seule goutte d'ammoniacale pour en amener la dissolution. (Frey.) Ce mélange sera employé tel quel ou versé, par gouttes, dans de l'eau, et l'on obtiendra à volonté une coloration en rouge, ayant l'intensité voulue.

Dans les recherches sur les parties délicates, on ajoute utilement à cette matière colorante, une quantité de glycérine égale environ à celle de la solution précédente.

Avec des teintures chargées de carmin quelques minutes suffisent pour colorer, tandis qu'une immersion de plusieurs heures et même d'un jour est nécessaire quand on emploie des teintures faibles. Nous recommandons spécialement les solutions faibles qui permettent de bien suivre l'action du carmin, et ainsi on arrive à de meilleurs résultats qu'en employant les solutions concentrées, qui colorent le tout d'une façon intense dans un temps relativement court.

On peut colorer par le carmin soit des objets frais, soit des objets durcis par l'alcool et par l'acide chromique, ou par un autre moyen; il faut remarquer que dans ce cas, mieux vaut l'alcool que l'acide chromique. On peut se servir du carmin pour faire des colorations doubles, comme par exemple dans le cas d'objets durcis par l'acide picrique. On fait aussi des imbibitions au carmin d'organes injectés soit en bleu, soit en jaune, etc.

Lorsqu'un objet est coloré par le carmin on peut ajouter de l'acide acétique pour précipiter le corps colorant dans l'intérieur des éléments.

450. Gerlach a donné le procédé suivant pour les imbibitions par



le carmin : 50 grammes d'eau auxquels on ajoute 2 à 5 gouttes de solution ammoniacale concentrée de carmin ; on laisse les coupes pendant deux à trois jours dans cette liqueur ; on peut employer d'après ce savant une solution concentrée de carmin, et y plonger les pièces quelques instants. Après cela on lave à l'eau, puis on traite par l'acide acétique pur ou alcoolisé, ou par la glycérine et l'acide acétique.

Frey recommande la solution ci-contre : 45 à 50 centigrammes de carmin sont dissous dans la quantité d'ammoniaque voulue pour avoir une liqueur complètement neutre, et on mêle à 50 grammes d'eau distillée ; on filtre, et on ajoute 50 grammes de glycérine, puis 8 à 10 grammes d'alcool fort. Un fragment de tissu demeurera plus ou moins longtemps dans cette solution, selon que celle-ci aura plus ou moins de puissance colorante ; avec des teintures chargées quelques minutes suffisent pour colorer, tandis qu'une immersion de plusieurs heures est nécessaire quand on emploie des teintures faibles. Après avoir retiré le tissu coloré, on le lave soit avec de l'eau pure, soit avec de l'eau légèrement acidulée (2 à 5 gouttes d'acide acétique pour 50 grammes d'eau).

451. Thiersch préconise une solution dont voici la formule :

Carmin. . . . .	1 gramme.
Borax. . . . .	4 —
Eau. . . . .	56 —

Le même auteur conseille encore la solution suivante :

Carmin. . . . .	1 gramme.
Acétate d'ammoniaque liquide. . . . .	1 —
Eau distillée. . . . .	5 —

On mélange cette solution à une autre composée de 1 partie d'acide oxalique pour 22 parties d'eau ; on filtre, et on ajoute 12 parties d'alcool pur.

S'il arrive que le mélange ainsi préparé ait un ton orange au lieu de la couleur rouge du carmin, on diminue l'action d'une trop grande quantité d'acide oxalique, en laissant tomber goutte à goutte de l'acétate d'ammoniaque, jusqu'à ce que la solution ait acquis le degré de teinte carminée voulu. Toutefois, on peut aussi se servir de cette teinture jaune pour colorer. Si, dans la suite, il se forme un précipité de cristaux d'oxalate d'ammoniaque, ce qui a lieu lorsqu'on ajoute à la solution de l'acétate d'ammoniaque liquide ou de l'alcool, on filtrera le tout une seconde fois.

D'après les expériences de Thiersch, cette teinture colore, d'une manière égale, en une à trois minutes, sans donner lieu à des gonflements des cellules épithéliales. Après avoir obtenu la coloration, on enlève la matière colorante restée à la surface, avec un mélange d'environ 80 parties d'alcool et de 20 parties d'eau. Si la coloration est trop foncée, on lave le tissu dans une solution d'alcool et d'acide oxalique ou d'acide borique. (Thiersch, dans, H. Frey, *le Microscope*, trad. par Spillmam, 1867, p. 167.)

452. Beale donne les solutions suivantes :

<i>Première solution.</i>	
Carmin. . . . .	50 centigr.
Acétate d'ammoniaque liquide concentré. . . . .	50 centigr.
Glycérine. . . . .	60 grammes.
Alcool. . . . .	15 —

<i>Deuxième solution.</i>	
Carmin. . . . .	10 centigr.
Ammoniaque caustique. . . . .	2 centigr.
Glycérine. . . . .	60 grammes.
Eau. . . . .	60 —
Alcool. . . . .	25 —

Pour préparer ces liquides le carmin est divisé en petites parcelles, puis mêlé avec l'ammoniaque ou son acétate dans un verre à réactifs et dissous à chaud. Au bout d'une heure, cette solution est froide, et une partie de l'ammoniaque s'est évaporée. On y ajoute alors l'eau, la glycérine et l'alcool ; on filtre, ou bien, après un repos de plusieurs heures, on sépare du dépôt la partie claire de ce mélange pour s'en servir. La coloration a lieu par imbibition dans les différentes parties, en un temps qui est loin d'être toujours le même.

#### *Teinture au carmin bleu.*

453. *Carmin bleu* ou *bleu de carmin* est le nom commercial du précipité obtenu en versant de la potasse dans le *sulfate d'indigo* dit *bleu de Saxe*.

Thiersch a recommandé le mélange suivant :

Acide oxalique, 1 partie,
Eau distillée, 22 à 50 parties,
Bleu de carmin, quantité suffisante pour amener la saturation.

L'alcool peut entrer dans cette solution. Si la couleur bleue est en excès, on y remédiera avec une solution d'acide oxalique dans de l'alcool. Cette matière colore vite par imbibition et d'une manière uniforme. Elle sert à teinter en bleu la masse des tissus in-



jectés en rouge au carmin, etc. Elle convient aussi pour colorer les cylindres-axes, ainsi que les cellules des ganglions, du cerveau et de la moelle épinière, préalablement durcis dans l'acide chromique.

*Teinture à la fuchsine ou rouge d'aniline.*

454. On sait que la base connue sous le nom de *rosaniline* ( $C^{12}H^{12}Az^5$ , Hoffmann), en combinaison avec les acides, constitue les différents *rouges d'aniline*. Le plus employé est la *fuchsine* qui a été le premier *rouge* découvert par Verguin, de Lyon, en 1859. Frey en prépare ainsi une teinture.

Fuchsine cristallisée, 1 centigramme.  
Alcool absolu, de 20 à 50 gouttes.  
Eau distillée, 15 centimètres cubes.

Il résulte de ce mélange une belle solution rouge. Elle colore, presque instantanément, et sans rien altérer tous les tissus animaux. Elle convient, d'une manière spéciale, pour l'étude des couches épithéliales, de la membrane hyaloïde, du cristallin et du corps vitré.

Un peu étendue d'eau, cette même solution colore, dans l'espace d'une demi-heure, les cellules à cils vibratiles des grenouilles sans que le mouvement des cils cesse un instant. On voit également des globules sanguins se colorer, mais d'une manière lente. Cette même solution est d'un usage excellent pour la coloration des cellules ganglionnaires et celle des éléments cellulaires des glandes lymphatiques; mais, par contre, elle paraît convenir beaucoup moins pour les cartilages et le tissu osseux. Les tubes nerveux, après une immersion de plusieurs heures, deviennent légèrement rouges, et leurs cylindres-axes deviennent sensiblement plus foncés.

La solution de fuchsine produit des effets supérieurs, sous beaucoup de rapports, à ceux obtenus avec le carmin. La promptitude, l'uniformité de la coloration, telles sont les qualités qui la rendent précieuse quand il s'agit de démonstrations instantanées et pour colorer des cellules pâles, délicates, qui deviennent ainsi plus distinctes sans subir d'altération; mais l'alcool absorbe promptement la matière colorante. On ne peut pas en conserver les préparations dans le baume du Canada. (Frey.)

*Teinture au bleu d'aniline ou azurite du commerce.*

455. Le bleu ordinaire d'aniline (les *bleus d'aniline* sont des combinaisons d'aniline avec divers acides) ne se dissout pas dans

l'eau. En le traitant avec l'acide sulfurique, on en retire la partie bleue qui est soluble. On dissoudra simplement ce bleu dans de l'eau jusqu'à ce qu'on ait obtenu la teinte foncée du cobalt, ou bien on recourra au mélange dont voici l'indication :

Bleu d'aniline soluble, 2 centigrammes,  
Eau distillée, 25 centimètres cubes,  
Alcool, 20 à 25 gouttes.

Ce liquide a réellement les avantages que Frey lui attribue. Il colore surtout en bleu vif, et en quelques minutes, les tissus préparés dans l'alcool; il faut un peu plus de temps pour les objets préparés avec l'acide chromique. On conserve cette couleur dans l'eau, dans l'alcool et dans la glycérine; elle n'est point altérée par l'addition d'un liquide acide ou alcalin. Les glandes lymphatiques, la rate, et plus particulièrement des coupes du cerveau et de la moelle épinière, prennent, sous son influence, un bel aspect. (Frey.)

456. Les *bleus* précédents, celui d'*aniline* surtout, ainsi que l'indigo pulvérulent, servent non-seulement dans les conditions précédentes, mais encore, tenus en suspension dans l'eau pure ou un peu albumineuse, ils servent dans les expériences sur la circulation. Injectés dans une veine on voit leurs globules circuler avec ceux du sang. (Voyez p. 85.)

457. L'indigo et le carmin, en suspension dans l'eau, etc., ont aussi été recommandés par Dujardin pour étudier la direction des mouvements des cils vibratiles épithéliaux et des infusoires, ainsi que comme moyen de coloration du tube digestif des animaux microscopiques qui les avalent.

*Hématine ou hématoxyline.*

458. C. F. Müller s'est servi de cette substance dans ses recherches sur la cornée. C'est la matière colorante du bois de Campêche, découverte par M. Chevreul et appelée par lui *hématine* en 1814.

On prend une petite quantité de solution d'hématoxyline dans l'alcool absolu et on la mélange à une solution d'alun (2 d'alun; eau 50); on obtient de cette façon une liqueur violette dans laquelle il suffit de laisser les coupes pendant dix à vingt minutes, pour obtenir l'effet désiré.

459. Le suc des *Vaccinium*, celui de la *Canneberge* en particulier (*Vaccinium oxycoccos*, L.), colore très-bien les cellules nerveuses,