

la solidification de celle-ci, on retire du tube une petite bougie contenant à une de ses extrémités l'organe disposé dans le sens précis où l'on veut pratiquer les coupes.

Au lieu de paraffine, on peut se servir de divers encollages (que l'on trouve à acheter chez M. Bourgogne à Paris), au moyen desquels on colle les organes à couper sur du liège ou sur de petits morceaux de bois tendre. Il faut toujours appliquer sur l'objet plusieurs couches de ces encollages, lesquelles demandent plusieurs heures, quelquefois plusieurs jours pour sécher; tandis que la paraffine est immédiatement solide, et ce procédé dû à Polaillon a au moins l'avantage d'être expéditif.

Ces encollages ont généralement pour base des mélanges de solutions concentrées de sucre ou de gomme avec de la gélatine dissoute.

500. Les coupes que l'on peut faire à *main levée*, suffisantes pour l'étude de la plupart des tissus, sont souvent défectueuses pour celle du tissu ganglionnaire. En effet, il s'agit non-seulement d'avoir une tranche très-mince, mais encore de l'avoir souvent dans une grande étendue, afin qu'elle comprenne les nerfs qui s'irradient du ganglion, et que l'on puisse suivre, s'il est possible, la marche des tubes nerveux entre les cellules ganglionnaires et leur continuité avec ces éléments anatomiques. Pour obvier à cette imperfection de la main, M. Polaillon a fait construire, par MM. Robert et Collin, un *microtome* qui ne diffère de celui de Follin que par la facilité avec laquelle on fixe dans son intérieur l'objet à couper.

Nous venons de parler de la manière de faire de petites bougies cylindriques de paraffine avec un ou plusieurs ganglions nerveux, par exemple, pris dans cette substance. Le calibre des moules de laiton qui servent à les fabriquer est égal au calibre du tube de ce microtome de Polaillon, de sorte que les bougies entrent exactement dans ce tube. Une de leurs extrémités (celle qui ne contient pas le tissu, le ganglion, etc.) repose sur une sorte de piston de cuivre fixé à la vis micrométrique, piston qui monte avec cette vis, et par suite pousse le cylindre de paraffine, dont l'autre extrémité (celle qui contient le ganglion) arrive au niveau d'un plan d'acier poli.

Supposez qu'on fasse glisser une lame bien affilée sur ce plan, on coupera tout ce qui le dépassera; si on fait monter la vis micrométrique d'un trentième ou d'un cinquantième de millimètre, l'extrémité de la bougie fera saillie au-dessus du plan d'une quan-

tité correspondante, et si on rase ce plan avec la lame d'un couteau, on aura une coupe de la paraffine et de l'objet qu'elle contient, d'une épaisseur égale au vingtième du millimètre. La paraffine se casse et se pulvérise, mais la coupe de l'objet reste.

On peut remplacer le cylindre de paraffine par un petit cylindre de moelle de sureau ou bois tendre de même diamètre; à une de ses extrémités, on fixe le ganglion par un encollage, on place tout le petit système dans le microtome, puis on pratique les coupes comme je viens de le dire.

La méthode des coupes, dans l'étude de presque tous les tissus, des ganglions en particulier, doit toujours être contrôlée par celle des dilacérations, si l'on ne veut s'exposer à des erreurs. C'est ainsi que M. Roudanowski (1865), qui n'a étudié que des coupes faites dans un seul sens, a cru voir des anastomoses entre les cellules ganglionnaires, au moyen de prolongements qu'elles s'enverraient réciproquement, anastomoses qui n'ont été signalées que par lui et que nous n'avons pu retrouver. (Polaillon, *Étude sur les ganglions nerveux*, in *Journal de l'anatomie et de la physiologie*. Paris, 1866; p. 135.)

*De l'exécution et de la préparation des coupes des organes entiers
tels que les doigts, etc.*

501. Des organes entiers, tels que les doigts de l'homme, et de divers autres animaux, les membres des fœtus ou de petits mammifères, des oiseaux, etc., plongés dans les mélanges acétiques (p. 288), ou nitro-chlorhydriques (p. 291), peuvent au bout de plusieurs jours ou de plusieurs semaines, et après dessiccation à l'air libre, être réduits en coupes minces. On pratique ces coupes à l'aide des appareils à trancher décrits précédemment (p. 248 et p. 255). Les os privés de leur phosphate calcaire se laissent sectionner sans difficulté. Ces coupes sont des plus utiles pour étudier les rapports des ongles avec les papilles de la matrice onguéale, la situation réelle des glandes sudoripares, le mode d'union des ligaments aux os ou aux cartilages, les rapports des surfaces articulaires entre elles et avec les synoviales, etc.

On trouve du reste des coupes de ce genre très-bien faites parmi les préparations que M. Bourgogne livre séparément ou en collection méthodiques.

Une fois exécutées, ces coupes doivent être gonflées et rendues transparentes par un séjour de quelques heures au moins, dans

l'eau glycinée, et conservées ensuite dans un mélange formé de 2 parties de glycérine, 1 d'eau, et 1 environ d'acide acétique.

ART. IV. — DE L'ISOLEMENT DES ÉLÉMENTS ANATOMIQUES
PAR DILACÉRATION ¹.

502. La nécessité de bien connaître individuellement les caractères de chacune des espèces d'éléments anatomiques qui entrent dans la composition d'un tissu pour se rendre un compte exact de leur arrangement réciproque dans celui-ci rend indispensable leur isolement dans un grand nombre de circonstances. Il en est ainsi, non-seulement dans l'étude des parties élémentaires des animaux, mais encore dans celle des plantes, bien qu'ici les coupes permettent assez ordinairement de voir à la fois les caractères des cellules et leurs relations. Toutefois, pour étudier les cellules du liber, les laticifères, les cellules du tissu de beaucoup de champignons, etc., il faut les dissocier et les isoler par dilacération, après avoir enlevé par déchirure ou à l'aide d'une coupe mince une petite portion du tissu.

L'expérience montre, dans ce cas et dans beaucoup d'autres encore, que la dilacération et le raclage même ne sont pour bien des tissus qu'un moyen de les réduire en lames plus minces que celles que donnent les coupes, plus transparentes par suite, mais d'une moindre étendue, ne montrant que les rapports des éléments entre eux, mais non ceux d'organes microscopiques plus ou moins rapprochés les uns des autres, ce à quoi les coupes servent surtout.

503. D'une manière générale, pour étudier individuellement les éléments anatomiques des animaux, la première condition à remplir quand on fait une préparation destinée à être portée sous le microscope, c'est d'isoler avec soin, par la dissection, l'organe dont on veut examiner le tissu, afin de savoir au juste d'où vient le corpuscule que l'on a sous les yeux, et ne pas donner de détermination vicieuse. Cette remarque est surtout applicable aux études embryogéniques, d'anatomie comparée et d'anatomie pathologique. Très-souvent c'est sous la loupe ou le microscope à dissection qu'il faut faire cette dissection préalable. Il faut ensuite prendre avec de petits ciseaux une minime quantité seulement du tissu que l'on

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

porte sur le porte-objet, préalablement bien essuyé et sur lequel on a mis une goutte du liquide dans lequel doit être faite la dissociation par dilacération isolante. Celle-ci s'exécute le plus souvent en fixant avec l'aiguille à manche, que tient la main gauche, le fragment du tissu pendant qu'avec l'aiguille de l'autre main qu'on plante dans celui-ci on le divise en parcelles plus petites. Souvent c'est la main gauche qui est obligée d'exécuter les mouvements qu'a d'abord faits la main droite, et *vice versa*. On continue ainsi jusqu'à réduction en particules presque invisibles à l'œil nu et en tenant les aiguilles presque perpendiculaires ou sous l'inclinaison donnée à une plume quand on écrit.

Le liquide dans lequel on doit faire la dilacération maintient les particules en suspension et empêche leur déformation. Il est en outre indispensable pour empêcher des bulles d'air de rester interposées entre ces parties et les lamelles de verre, ce qui masque les éléments anatomiques et gêne ou même rend impossible l'observation. Il fait de la préparation un tout homogène que la lumière traverse plus facilement, sans rencontrer des surfaces libres sur lesquelles elle se réfléchit.

Dans la grande majorité des cas, on peut se servir d'eau pour préparer ainsi les solides organiques, parce que la plupart sont insensibles à son action. Elle est très-utile lorsqu'il s'agit de se débarrasser des globules sanguins. Dans ce cas même, et lorsque des éléments insolubles dans un réactif, comme les fibres élastiques, certains épithéliums, le myolème, sont masqués par d'autres qui sont attaquables, tels que les fibres de tissu lamineux ou musculaire, on se sert directement d'acide acétique étendu pour y pratiquer la dissociation. Nous avons déjà dit que lorsqu'on prépare des éléments anatomiques attaquables par l'eau, il faut se servir d'autres liquides, et nous avons noté quels sont ceux qu'il faut choisir (voy. p. 274). Pour quelques tissus normaux ou pathologiques, il suffit de racler avec un scalpel sur une coupe fraîche de l'organe pour en exprimer le suc, ou en détacher quelques particules. Ce procédé peut être employé pour détacher les parcelles d'épiderme et d'épithélium et mêmes leurs cellules, ainsi que les ovules de l'ovaire de beaucoup de mammifères.

504. Il semble aux commençants que de si petits fragments ne peuvent rien montrer de bien concluant, la dilacération devant rompre les cellules ou les fibres qu'il s'agit d'observer; mais l'expérience prouve que ce procédé si simple montre mieux ces parties que d'au-

tres moyens plus longs et plus minutieux. De plus elle prouve que les cellules sont trop petites pour pouvoir subir alors l'action du tranchant de l'instrument, et, lors même que quelques-unes soient rompues, ce qu'on peut constater parfois, il en reste toujours assez d'entières pour permettre une étude complète. Quant aux fibres, leurs extrémités, coupées ou rompues, offrent souvent des caractères utiles à connaître, et elles sont ordinairement encore assez longues pour dépasser la largeur du champ du microscope, et même pour qu'on ne puisse en déterminer la longueur.

La dilacération doit être faite avec soin, comme une sorte de dissection minutieuse, quand il s'agit des *acini* des glandes, des corpuscules ganglionnaires, etc., qui sont assez gros pour être détruits par le raclage. Il est cependant des glandes en grappe, surtout hypertrophiées et la glande thyroïde, dans lesquelles ce dernier procédé suffit pour montrer les culs-de-sac ou les vésicules. Mais, pour la plupart des glandes, pour les bulbes pileux, il faut, par une dissection préalable, isoler l'acinus à étudier ou le bulbe, et l'enlever avec des ciseaux courbes, ou les observer sur les coupes faites comme nous l'avons vu plus haut.

C'est particulièrement dans l'exécution des préparations de ce genre qu'il faut éviter de prendre des fragments de tissu de trop grandes dimensions, faute ordinairement commise par les commençants. Souvent même, pendant la dissociation, particulièrement quand on opère sur des tissus qui se gonflent au contact de l'eau, on est obligé de repousser une partie des petits morceaux qu'on a placés sur le porte-objet pour achever l'opération en n'utilisant que la plus petite partie ainsi réservée.

Il faut se garder de dilacérer à sec les fragments ou les coupes des tissus et de mettre la goutte du liquide additionnel après la dissociation seulement. Lorsqu'on met le fragment à dilacérer dans le liquide avant la dissociation, celle-ci paraît plus difficile, les parties détachées venant toujours se replacer à côté des portions non dilacérées, mais cela est un bien moindre inconvénient que celui qui est produit par la dessiccation plus ou moins grande de l'objet pendant qu'on agit sur lui sans fluide. Dans ce dernier cas les éléments adhèrent à la lame de verre et, lorsqu'on dépose le liquide additionnel, il mouille difficilement les parties isolées ou les mouille incomplètement. On obtient alors des images très-peu nettes, des phénomènes de réflexion lumineuse qui nuisent beaucoup à l'observation et qui peuvent même devenir des causes d'erreur.

Au lieu de prendre un fragment de tissu, on peut faire une coupe la plus mince possible de celui-ci et la dilacérer ensuite; c'est le procédé que nous suivons de préférence. On doit généralement dissocier le plus possible, mais il est certains cas où l'on doit apporter la plus grande attention en dissociant; c'est lorsqu'on a affaire à des tissus formés d'éléments d'un grand volume à détails délicats et fragiles comme le sont par exemple les grosses cellules nerveuses du cervelet et autres.

505. Outre ces moyens de dissociation, il y a ceux qu'on n'emploie généralement qu'après l'action de réactifs et surtout de l'acide chromique faible. Pour les cellules nerveuses de la moelle épinière, par exemple, nous avons toujours très-bien réussi de la manière suivante; on prend un fragment de moelle qui a macéré dans l'acide chromique faible et on le place sur la lame porte-objet, en ajoutant une assez grande quantité de liquide additionnel, alors, avec le plat d'un scalpel ou un objet plat quelconque, on frappe doucement sur le fragment de tissu; de cette façon, on élimine très-facilement la matière granuleuse en enlevant le liquide à l'aide de papier buvard et le renouvelant plusieurs fois. Un autre moyen consiste dans l'emploi du pinceau. Pour cela on prend un fragment de tissu ou une coupe mince qu'on met dans une grande quantité de liquide additionnel et on place le pinceau perpendiculairement à l'objet, puis on frappe sur celui-ci en exécutant des mouvements précipités, sans être trop violents.

506. Nous voyons en résumé que les objets quels qu'ils soient, pour être soumis à l'examen microscopique, ont besoin de subir une préparation variant suivant le volume, la consistance les propriétés optiques et autres de l'objet. Il faut, en d'autres termes, qu'il soit apte ou rendu apte à être placé sur la lame porte-objet et recouvert d'une lamelle mince pour être ensuite porté sur la platine et mis au foyer de l'objectif.

Certaines manœuvres de la préparation sont communes à celle de tous les corps et nous citerons en premier lieu la fixation de ce dernier, d'une façon quelconque et la mobilité de l'appareil sur lequel il est fixé. Mais, en dehors des points communs à toutes les préparations microscopiques, on peut donner une idée d'ensemble du *modus faciendi* de celle-ci de la manière suivante:

A. Préparations extemporanées; 1° à sec; 2° avec liquide additionnel.

B. Préparations non extemporanées; 1° à sec; 2° avec isolement

des parties à l'état frais; 5° avec ou sans isolement des parties après durcissement de l'objet.

ART. V. — DE L'ISOLEMENT DES ÉLÉMENTS ANATOMIQUES
PAR INFILTRATION HYDROTOMIQUE.

507. Parmi les moyens qui peuvent être employés pour arriver à voir exactement à la fois ce que sont les éléments anatomiques et quel est leur arrangement réciproque, il faut noter spécialement les dispositions naturelles et les procédés artificiels qui tiennent ces parties écartées les unes des autres, tout en conservant leurs rapports essentiels.

Le type des dispositions naturelles de ce genre se rencontre dans le tissu de plusieurs organes des acalèphes dont les fibres et les cellules sont tenues écartées par une assez grande quantité de matière amorphe hyaline. Les coupes pratiquées à l'aide d'un rasoir ou de ciseaux permettent d'observer les parties élémentaires dans leurs rapports naturels et de bien voir leurs caractères individuels, sans dilacération et sans autre isolement que celui qui résulte de l'interposition de la matière amorphe transparente qui les tient à la fois réunis et écartés.

Il est d'autres invertébrés encore chez lesquels des particularités de texture de cet ordre peuvent être mises à profit d'une manière analogue pour l'étude des éléments qui les composent et de l'arrangement réciproque de ceux-ci. Il en est encore de même sur un certain nombre de vertébrés, ainsi que je l'ai signalé depuis longtemps à propos du tissu connectif ou lamineux du rostre des poissons cartilagineux (*Annales des sciences naturelles*, Paris, 1847, in-8, t. VII, p. 279), de celui des embryons de poissons, de batraciens et de reptiles.

Là et dans les tissus pathologiques aux éléments anatomiques figurés desquels l'interposition d'une substance amorphe hyaline donne l'état dit *colloïde* les coupes du tissu frais pratiquées au rasoir ou à l'aide des ciseaux courbes, peuvent permettre de faire les mêmes observations. Souvent elles montrent non-seulement les divers éléments nucléaires, cellulaires et fibreux du tissu, mais encore les capillaires, remplis ou non de globules sanguins, les leucocytes inclus dans cette matière amorphe, etc. Elles permettent de bien voir les rapports des uns avec les autres, des noyaux et des cellules, par exemple, avec les fibres au milieu des mailles que circonscrivent celles-ci.

508. On peut obtenir artificiellement un isolement analogue des fibres et des vaisseaux du tissu lamineux, qui permet d'en bien voir la structure, à l'aide de l'*hydrotomie*. (Lacauchie.) On sait que ce procédé consiste à injecter de l'eau dans les vaisseaux des animaux vertébrés jusqu'à ce que le liquide, traversant, par exemple, les parois des capillaires et s'interposant aux éléments anatomiques, les écarte en rendant le tissu transparent et rénitent.

Les petits organes formés d'éléments anatomiques opaques, comme les lobules adipeux, les filets nerveux, ou très-cohérents et ne se laissant pas écarter par l'eau, comme les faisceaux des tissus élastiques et fibreux, comme les petites glandes ou les acini des glandes composées deviennent alors évidents au sein du tissu transparent. Il est possible ensuite de faire des coupes de ce dernier avec des ciseaux, etc., ou de prendre isolément les petits organes dont il vient d'être question et que le gonflement du tissu lamineux d'interposition écarte les uns des autres.

Dans ces dernières circonstances et pour étudier aussi les diverses variétés que présente la texture des tissus lamineux, musculaires de la vie végétative, etc., il faut injecter ainsi jusqu'à production de l'œdème une solution de gélatine au lieu d'eau. Lorsqu'après son infiltration la gélatine s'est solidifiée, elle permet de faire des coupes à l'aide du rasoir et des ciseaux qu'on place dans l'eau ou dans la gélatine glycinée dont il sera question plus loin. Les préparations ainsi faites laissent bien voir la situation relative des éléments dans les tissus lamineux, glandulaires, musculaires, etc., que l'on a ainsi amené à l'état *colloïde* à l'aide d'une substance translucide qui ne s'écoulant pas comme l'eau maintient l'écartement des parties. Elles laissent aussi constater mieux que les autres moyens quelle est la proportion des éléments anatomiques accessoires par rapport aux éléments fondamentaux isolés les uns des autres par le procédé ci-dessus.

ART. VI. — PRÉPARATION DES OBJETS A L'ÉTAT SEC¹.

509. Les procédés que réclament les préparations d'objets secs exigent plutôt du soin et de la patience qu'une grande habileté, et toute personne qui voudra s'en occuper avec un peu d'assiduité parviendra aisément à de bons résultats.

Les objets seuls qui peuvent se trouver altérés par la présence

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

des liquides devront être conservés à l'état sec ; on sait qu'ils sont peu nombreux. La première méthode employée consistait à maintenir l'objet dans une fiche d'ivoire ou autre substance entre deux petites rondelles de mica ; mais ce moyen ne mettant pas les objets complètement à l'abri de l'air, a dû être rejeté ; du reste, l'emploi du mica présentait de grands inconvénients, car non-seulement cette substance est très-fragile, mais encore plus ou moins couverte de raies dont le nombre s'augmente par le frottement.

Pour les corps d'une certaine épaisseur, on collait sur le porte-objet une bande de papier ou d'étain plus ou moins forte, au centre de laquelle on ménageait une ouverture appropriée. Cette ouverture se pratique à l'aide d'un emporte-pièce ; on doit donc en avoir de différents diamètres si on use de ce procédé, aujourd'hui peu employé. La petite cavité formée par l'épaisseur du papier en contact avec le porte-objet forme la cellule destinée à recevoir l'objet. Pour clore ce réservoir, il suffit de superposer une lamelle mince que l'on maintient en la lutant à l'aide des moyens indiqués aux chap. V et VI de cette section. Aujourd'hui on remplace ces *cellules* en papier par celles dont il a été question page 251.

510. Pour coller ce papier, les étiquettes de ces préparations, etc., on peut se servir de la colle de M. Jackson, indiquée par Quekett, et qui est composée de :

Gomme adragante en poudre.	1 once.
— arabique.	2 —
Sucre blanc.	2 —

Le tout est dissous dans une quantité suffisante d'eau.

On achète chez les papetiers une colle en flacon, dite *colle blanche de Gaudin*, qui remplit très-bien les mêmes usages et autres analogues.

511. Pour certaines préparations à l'état sec, après avoir déposé l'objet sur la lame, on met dans un petit espace en rapport avec la lamelle à recouvrir quelques petits fragments de baume du Canada, préalablement épaissi ou presque desséché au bain-marie ; on recouvre le tout d'une lamelle et l'on chauffe légèrement avec la lampe à alcool ; le baume se liquéfie, et en appuyant légèrement, on fait adhérer les lames ensemble ; il se forme de la sorte un petit cadre résineux qui sèche promptement et qui préserve pour toujours l'objet du contact de l'air.

Pour les écailles des lépidoptères, des podures, des lèpismes, des poissons, et pour un grand nombre d'infusoires fossiles, etc., etc., ce moyen est employé par les préparateurs.

Pour conserver les cristaux, on peut se servir des moyens indiqués ci-dessus, mais celui de Darker est préférable.

Son procédé consiste à prendre deux lames de glace taillées en biseau, de manière à produire par leur rapprochement une gouttière que l'on peut combler pour maintenir les lames. Ayant mis une goutte de solution saline entre les deux lames, on laisse cristalliser ou l'on active la cristallisation à l'aide de la chaleur ; cela fait, il ne reste plus qu'à couler dans la gouttière l'un des luts indiqués dans le chapitre suivant.

La méthode de Darker est très-bonne, aussi pour conserver à l'état sec des tranches minces de bois, d'os, des échantillons minéralogiques, etc.

512. Les préparations à sec peuvent être transparentes ou opaques et on les place suivant les cas sur un fond noir et ne laissant nullement passer la lumière, ou sur une lame transparente. Il est très-important de placer les préparations qu'on veut examiner par lumière directe ou réfléchie par une loupe sur un fond complètement opaque, à cause des effets produits même par une faible lumière traversante ; ainsi le tissu osseux sec, dont les ostéoplastes sont remplis d'air montre ces cavités parfaitement noires et nettement limitées quand il y a absence totale de lumière traversante, et dans le cas inverse, on les voit grises, mal délimitées, et présentant par suite une image très-désagréable à l'œil. (Voy. pages 545 à 546.)

CHAPITRE IV

Des matières destinées à la conservation des objets préparés et de leur emploi.

513. Le sujet traité dans ce chapitre est très-différent, ainsi qu'on le comprend aisément, de celui dans lequel il a été question des agents chimiques, qui, en raison de l'action qu'ils exercent sur tels éléments anatomiques et non sur tels autres, servent à faire distinguer ceux-ci de ceux qui appartiennent à quelque espèce différente, mais pouvant leur ressembler plus ou moins, quant à la forme, au volume, etc.