

position avec un deuxième mode, rare il est vrai, où le cartilage ne se détruit pas, mais se transforme simplement en os comme cela arrive pour l'angle de la mâchoire inférieure. Dans ce cas, la gangue cartilagineuse devient gangue osseuse, et les cellules cartilagineuses deviennent cellules osseuses. C'est le *type métaplastique* (fig. 59).

b) *Développement du tissu osseux secondaire ou os conjonctif.*

Le point de départ du tissu osseux n'est plus ici du cartilage, mais du tissu conjonctif. Certaines fibres conjonctives s'incrudent de sels calcaires, les cellules embryonnaires de leur voisinage se transforment en ostéoblastes (fig. 60) et l'os est formé de la manière précédemment décrite.

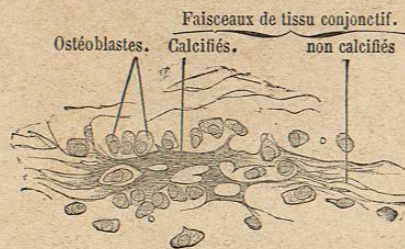


Fig. 60. — Coupe parallèle du frontal d'un embryon humain. (Gross. 240. Technique n° 27).

Dans le chapitre qui précède nous n'avons envisagé que le processus microscopique lié à la première formation du tissu osseux. L'accroissement ultérieur de l'os se fait pour les os longs de la manière suivante. L'accroissement longitudinal est assuré par l'allongement continu de l'espace médullaire primordial et par l'ossification enchondrale du cartilage en croissance continue. L'accroissement en épaisseur est réalisé par le dépôt continu de nouvelles couches osseuses périostales (1).

Les os conjonctifs plats s'accroissent par la formation incessante de nouvelles masses osseuses sur les bords — accroissement en largeur — et sur les surfaces — accroissement en épaisseur. L'accroissement de l'os n'est cependant pas dû en totalité au dépôt de nouvelles couches osseuses. A côté de ce processus, *accroissement appositionnel*, il faut aussi admettre l'*accroissement interstitiel* de l'os, sorte d'expansion de la substance osseuse déjà formée.

Il ne faudrait pas croire que la substance osseuse une fois formée persiste indéfiniment; au contraire elle subit assez tôt une sorte de fonte partielle. Cette fonte n'a pas lieu seulement au niveau des surfaces qui limitent la cavité des os longs, là où la résorption est normale, mais aussi

(1) L'apparition de plusieurs points de calcification et le rôle du cartilage épiphysaire sont du domaine de l'anatomie descriptive.

au niveau d'autres points où plus tard il se développera de la substance osseuse. (Voyez Technique n° 23.)

Partout où il y a résorption de substance osseuse on rencontre des

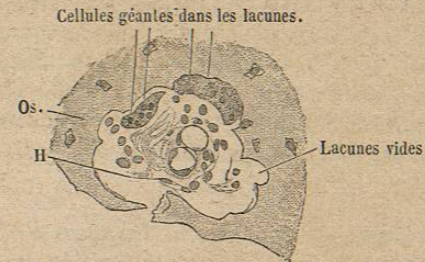


Fig. 61. — Coupe transversale de l'humérus d'un chat nouveau-né. (Gross. 240). H. canaux de Havers contenant deux vaisseaux et des cellules médullaires. (Technique n° 27).

cellules géantes au fond d'espèces de fossettes creusées dans l'épaisseur de l'os. Ce sont les lacunes de Howship. Les cellules géantes portent dans ce cas le nom d'ostoclastes (fig. 61.)

## TECHNIQUE

**N° 4. Tissu conjonctif gélatiniforme.** — On prend le cordon ombilical d'un embryon humain de 2 à 4 mois, ou celui d'un embryon de porc de 3 à 6 cent. de longueur et on le plonge dans le liquide de Müller (page 14) dans lequel il séjournera de 3 à 4 semaines. On le durcit ensuite dans environ 30 cent. d'alcool progressivement renforcé (page 5). Le cordon sera encore assez mou. Pour y faire des coupes transversales il faudra donc l'inclure dans un fragment de foie, et le comprimer assez fortement pendant qu'on fera les coupes. Celles-ci seront colorées au micro-carmin (12 heures de séjour) ou à l'hématoxyline (cinq minutes de séjour). La préparation ainsi colorée sera examinée dans une goutte d'eau distillée (fig. 33); les fins prolongements cellulaires et les faisceaux conjonctifs ne sont pas visibles dans la glycérine ou dans le baume. Les réseaux cellulaires ne se voient pas bien au voisinage des coupes des vaisseaux, on choisira donc pour l'examen de la préparation des points assez éloignés des vaisseaux. Plus l'embryon est âgé, plus le nombre des faisceaux conjonctifs est grand. Pour conserver les préparations on les montera dans la glycérine étendue d'eau.

**N° 5. Tissu conjonctif fibrillaire, tissu conjonctif fasciculé.** — Le tissu conjonctif intermusculaire, par exemple celui qui se trouve étalé en mince feuillet entre le grand dentelé et les intercostaux, est découpé en petites bandelettes de 1 à 2 cent. de longueur. On prend un de ces fragments que l'on dissocie légèrement à l'aide des aiguilles et on le transporte sur une lame sèche. (Voy. Demi-déssication, n° 39, a.) On recouvre avec une lamelle après avoir ajouté une goutte d'une solution de chlorure de sodium. Sur cette préparation on voit les faisceaux conjonctifs pâles

avec leur trajet sinueux (fig. 28) ; avec un peu d'attention on y distingue les fibres élastiques à contours nets et à aspect brillant, et même en certains points favorables le noyau des cellules conjonctives.

**N° 6. Cellules du tissu conjonctif fibrillaire.** — Pour voir apparaître ces cellules, il suffit d'ajouter à la préparation une goutte de picrocarmin (page 7). Dans la plupart des cas on n'apercevra que le noyau de la cellule coloré en rouge, surtout lorsque la cellule adhère dans toute son étendue au faisceau conjonctif (fig. 34, A, 3). Dans quelques cas rares on peut également voir le corps cellulaire pâle et de forme variée (fig. 34, A, 1 et 2).

**N° 7. Fibrilles.** — On plonge un fragment tendineux de 2 cent. de longueur dans 100 cent. cubes d'une solution aqueuse saturée d'acide picrique. Le lendemain on dissocie le tendon dans le sens longitudinal à l'aide de deux pinces. On enlève de l'intérieur du tendon un faisceau de 5 mm. de longueur environ. On dissocie ce faisceau sur une lame sèche (voy. n° 39, a) ; on y ajoute une goutte d'eau distillée et on recouvre le tout d'une lamelle. A un fort grossissement, qu'il faut toujours employer, on voit les fibrilles sous la forme de filaments pâles et très fins.

**N° 8. Cellules enveloppantes (fibres en spirale).** — On prend à l'aide de ciseaux un cent. carré environ de la lame conjonctive qui soutient le cercle artériel de Willis. On lave un instant dans un verre de montre rempli d'une solution de chlorure de sodium, et à l'aide d'aiguilles on porte sur une lame dans une goutte de la même solution et l'on recouvre d'une lamelle. Déjà à un faible grossissement, en dehors des nombreux capillaires sanguins et des faisceaux conjonctifs ordinaires, nettement limités, on voit d'autres faisceaux brillants, distincts du reste du tissu conjonctif ; un plus fort grossissement et l'emploi d'un diaphragme plus étroit permettent de reconnaître la nature fibrillaire de ces faisceaux. Si, après avoir mis l'un de ces faisceaux dans le champ du microscope, on insinue sous la lamelle quelques gouttes d'acide acétique, l'acide arrivant à son contact liquéfie pour ainsi dire le faisceau, la striation longitudinale disparaît et fait place à des noyaux allongés. Cette sorte de liquéfaction n'est pas régulière ; de distance en distance on voit des étranglements. Avec un éclairage faible, on distingue la fibre (prolongement cellulaire) qui donne naissance à l'étranglement (fig. 35). Pour mettre en évidence la cellule elle-même, il faut prendre du tissu provenant de jeunes enfants, et suivre d'ailleurs la technique que nous venons d'indiquer.

**N° 9. Cellules du tissu grasseux.** — On excise du creux axillaire d'un individu amaigri un petit fragment de cette graisse à apparence gélatineuse, d'un rouge jaunâtre ; on l'étale rapidement en couche très mince sur une lame sèche ; on ajoute aussitôt une goutte d'eau salée et l'on recouvre d'une lamelle. Là où la couche est très mince, on voit des images analogues à celles de la fig. 49, B ; on peut colorer les cellules en mettant sur les bords de la lamelle une goutte de picro-carmin, et conserver dans la glycérine étendue d'eau. On peut prendre des cellules

grasseuses dans un point quelconque de l'organisme et les examiner de la même façon. On peut en variant la mise au point se rendre compte de la forme sphérique des cellules (voy. fig. 14, A).

**N° 10. Fibres élastiques fines.** — On fait la préparation indiquée au n° 5 et l'on ajoute sous la lamelle une goutte d'acide acétique (page 26). Les faisceaux conjonctifs se gonflent jusqu'à devenir transparents : les fibres élastiques au contraire ne se modifient aucunement, et leurs contours ressortent nettement (fig. 29, A).

**N° 11. Fibres élastiques plus volumineuses.** — Un fragment de 1 cent. environ du ligament cervical postérieur du bœuf est dissocié dans une goutte d'eau salée (fig. 30, B). On peut colorer la préparation ainsi faite par le picro-carmin et monter ensuite dans la glycérine étendue d'eau.

**N° 12. Coupes transversales de fibres élastiques volumineuses.** — On laisse dessécher de 4 à 6 jours un fragment de ligament cervical postérieur de 10 cent. environ de longueur, et l'on traite comme il est indiqué au n° 14.

**N° 13. Membranes fenêtrées.** — Un fragment de l'endocarde, de 5 mm. de côté environ, est porté sur une lame dans une goutte d'eau. On recouvre d'une lamelle et sur le bord de celle-ci on laisse tomber une à deux gouttes de lessive de potasse (page 26). L'examen portera surtout sur les bords de la préparation (fig. 32).

L'artère basilaire donne également de bonnes membranes fenêtrées ; on excise environ un cent. de l'artère ; on porte ce fragment sur la lame, et d'un coup de ciseaux on l'ouvre longitudinalement. On y ajoute ensuite une goutte d'eau, et l'on dissocie l'artère en fragments tenus à l'aide d'un scalpel, ce qui est très facile. On recouvre d'une lamelle et on pose une goutte de lessive de potasse (page 27). Les petits orifices de la membrane apparaissent comme des noyaux brillants.

**N° 14. Tendons.** — On prend un fragment de tendon de 5 à 10 cent. de long qu'on laisse dessécher à l'air sans l'exposer au soleil. Des tendons minces comme ceux du fléchisseur du pied par exemple se dessèchent rapidement ; à la température ordinaire de la chambre, il suffit en général de 24 heures pour avoir un tendon assez desséché ; les tendons plus volumineux exigent plusieurs jours. On fait dans ce fragment de tendon à l'aide d'un scalpel et non pas d'un rasoir une section transversale bien nette. De cette surface on détache à l'aide du même scalpel de minces copeaux, qu'on jette dans un petit récipient rempli d'eau distillée ; on les y laisse séjourner deux minutes environ et on les examine ensuite dans une goutte d'eau distillée (fig. 38). Veut-on les conserver, on les colore au picro-carmin pendant cinq minutes et l'on monte dans la glycérine étendue d'eau (page 5). Souvent on voit une striation qui parcourt dans toute sa largeur une coupe transversale ; cette situation est due au tranchant du scalpel. Une seconde coupe sera montée dans l'eau distillée et l'on ajoutera sur le bord de la lamelle une goutte d'acide acétique.

On ne tarde pas à assister à la liquéfaction sur les bords de la préparation des faisceaux touchés par l'acide.

**N° 15.** Pour l'étude de la **structure fine du tendon** et de ses cellules avec leurs prolongements, il est bon de prendre un petit fragment d'un tendon aussi frais que possible. Pour que l'opération réussisse, il faut que le tendon soit mince, celui du grand palmaire convient très bien. Ce fragment de 3 cent. de longueur est plongé dans 100 cent. cubes d'une solution d'acide chromique à 0,5 pour cent, où on le laisse séjourner pendant 4 semaines environ. La solution sera plusieurs fois renouvelée pendant ce laps de temps.

Enlevés de l'acide chromique, les fragments seront lavés à l'eau courante pendant une à deux heures, et durcis dans 40 cent. cubes environ d'alcool progressivement renforcé (page 15). Les coupes doivent être faites à l'aide d'un rasoir bien affilé, car souvent les tendons deviennent friables et s'émiettent à la coupe. Il est peu important que les coupes soient très minces. On les conserve non colorées dans la glycérine étendue d'eau. On voit déjà à un faible grossissement des images très fines; avec un éclairage faible, et l'interposition d'un diaphragme, les préparations sont beaucoup plus nettes que celles obtenues par la technique indiquée n° 14. Un grossissement plus fort donne des images analogues à celles représentées dans la fig. 39. Les cavités noires et anfractueuses contiennent généralement des cellules tendineuses.

**N° 16. Cellules tendineuses.** — On prend des fragments de 0,5 à 1 cent. de longueur dans la queue d'une souris ou d'un rat et on les plonge dans environ 5 cent. cubes de carmin aluné. Le lendemain ou plus tard on dissocie rapidement ces fragments très gonflés sur une lame parfaitement desséchée. Il n'est nullement nécessaire d'isoler de très fins faisceaux fibrillaires; il faut seulement que les fibres soient bien étendues; on ajoute une goutte d'eau distillée et l'on recouvre d'une lamelle.

A un faible grossissement, on voit des séries de cellules sous la forme de longues stries foncées; cet aspect est dû à ce qu'on ne voit les noyaux que par leur bord. Sur certains points les noyaux vus de face sont d'un rouge mat. Le corps cellulaire, le protoplasma, ne sont visibles qu'à de forts grossissements. Vue de profil, la cellule apparaît sous la forme d'un trait net, foncé (fig. 36), tandis que de face elle est très pâle et à peine apparente (fig. 37, B). La cellule est souvent repliée de sorte qu'elle est visible de profil et de face à la fois. On distingue quelquefois les fibrilles conjonctives sous forme de stries fines et parallèles; quant aux fibres élastiques on les reconnaît toujours à la netteté de leur contour. Ne pas manquer d'examiner, à l'aide de la vis micrométrique, toute l'épaisseur de la préparation en variant la mise au point.

Pour conserver, il suffit de remplacer l'eau distillée par la glycérine étendue d'eau.

**N° 17. Cartilage hyalin.** — On excise l'appendice xyphoïde d'une grenouille; on porte cet appendice toujours très mince sur une lame sèche, on recouvre d'une lamelle et on examine rapidement avec de forts

grossissements. La cellule cartilagineuse remplit complètement la cavité cartilagineuse (fig. 41, A). Pour observer plus longtemps il faut ajouter une goutte d'eau salée.

**N° 18. Cartilage hyalin des côtes.** — On pratique des coupes dans ce cartilage sans aucune autre préparation. Le rasoir sec suffit. On monte les coupes dans un peu d'eau. On choisira de préférence dans le cartilage costal les points qui sont brillants à la coupe. Ces points contiennent des fibres rigides (fig. 42, B). Veut-on conserver, il suffit d'ajouter quelques gouttes de glycérine étendue d'eau. Le cartilage frais ne se colore pas bien; on le mettra d'abord dans l'alcool absolu, ou dans le liquide de Müller, puis dans l'alcool et l'on colorera finalement à l'hématoxiline de Böhmer (page 6). Le montage dans le baume éclaircit trop la préparation, et fait disparaître les détails.

**N° 19. Cartilage élastique.** — On prend un cartilage aryénoïde de l'homme (mieux encore du bœuf); la teinte jaunâtre de l'éminence vocale indique le point où se trouve le cartilage élastique. Il faut faire en sorte que la limite du cartilage hyalin et du cartilage élastique soit comprise dans la coupe; on examine les coupes dans l'eau. Pour conserver, voyez n° 18. Le développement des fibres élastiques peut souvent être étudié sur les cartilages des adultes, notamment sur le cartilage de l'épiglotte et les éminences vocales des cartilages aryénoïdes (fig. 43).

**N° 20. Fibro-cartilage.** — Les disques intervertébraux d'un homme adulte sont découpés en fragments de 1 à 2 cent. de côté. On les fixe pendant 24 heures dans 100 cent. cubes de la solution micro-sulfurique de Kleinenberg (page 14) et on les durcit ensuite dans 50 cent. cubes d'alcool progressivement renforcé (page 15). Après avoir séjourné pendant trois jours dans l'alcool à 90°, ils sont colorés *in toto* au carmin boraté (page 7), de nouveau durcis dans l'alcool et coupés ensuite. On monte dans le baume (fig. 46). Les coupes qui passent par les bords des disques donnent également du cartilage hyalin. Les coupes portant sur les parties centrales du disque montrent des groupes de cellules cartilagineuses (voy. page 63).

**N° 21. Coupes osseuses.** — Les os destinés à être coupés ne seront pas desséchés avant d'être macérés. Dès qu'un os ou un fragment osseux est isolé, il faut le plonger immédiatement dans l'eau et l'y laisser pendant plusieurs mois. Cette eau sera souvent changée. On le dessèche ensuite, et l'on place un fragment dans les mors d'un étai, après l'avoir disposé entre deux morceaux de liège ou enveloppé d'un linge. A l'aide d'une scie à découper, on enlève dans le sens longitudinal et dans le sens transversal des lamelles de 1 à 2 mm. d'épaisseur, puis avec de la cire à cacheter, on fixe solidement la lamelle sur un bouchon; la cire doit déborder la lamelle. On plonge le tout dans l'eau pendant un moment et ensuite on polit la lamelle au moyen d'une lime plate très fine; la lime sera plongée pendant cette opération plusieurs fois dans l'eau, pour enlever les particules qui y adhèrent, et pour empêcher que la cire ne s'échauffe par le frottement.

On enlève ensuite la lamelle osseuse en faisant fondre la cire qui la maintient sur le bouchon, et on la fixe par la face usée, et on lime de nouveau jusqu'à ce que la lamelle soit devenue si mince qu'on aperçoive la cire par transparence. On porte le tout dans l'alcool à 90°, dans lequel la lamelle ne tarde pas à se détacher, la cire étant soluble dans l'alcool. On use ensuite cette lamelle à la pierre ponce. A cet effet on la place entre deux pierres ponces que l'on frotte l'une sur l'autre; elle se trouve bientôt fixée à l'une des pierres ponces par une sorte de ciment formé des débris de la pierre et des parcelles de l'os; l'autre polit sa face libre. On frotte pour finir la lamelle sur une pierre à rasoir, on l'essuie et l'on sèche avec du papier filtre; pour la polir on la passe sur un cuir à rasoir, qu'on enduit de craie. Cette dernière manipulation rend à la lamelle son ancien brillant. Il faut que la lamelle soit très mince; on s'en assure pendant qu'on lime en l'examinant de temps à autre à un faible grossissement. Une fois la minceur voulue atteinte, on porte la lamelle sur une lame de verre, on recouvre et l'on borde à la parafine (fig. 47).

On examine la préparation ainsi faite avec de faibles d'abord, puis avec de forts grossissements. Les cavités et les canaux osseux, étant remplis d'air, apparaissent avec l'éclairage ordinaire du microscope teintés en noir.

**N° 22. Fibres de Sharpey.** — On prépare une lamelle osseuse suivant la méthode exposée n° 21. Cette lamelle doit être prise sur la diaphyse d'un os long. On la sèche bien et on la met pendant deux à cinq minutes dans l'essence de térébenthine, et l'on monte dans le baume. Ces fibres qui sont invisibles sur des préparations faites par les autres méthodes (n°s 21 et 23) apparaissent nettement sur ces dernières lamelles même à de faibles grossissements (fig. 52).

**N° 23. Canaux de Havers et lamelles osseuses.** — On pratique des coupes longitudinales et transversales sur des os préalablement décalcifiés dans une solution d'acide azotique de 3 à 9 pour cent (page 6) et durcis après décalcification. Il est bon de choisir le métacarpien d'un adulte. Les fragments compactes des os plus volumineux, comme le fémur par exemple, demandent un temps plus long pour être décalcifiés, quelquefois plusieurs semaines. Il ne faut pas détacher le périoste. Pour voir les canaux de Havers sur des coupes longitudinales, il faut faire des coupes très épaisses (2, 5 mm. et plus), et monter dans la glycérine étendue d'eau (fig. 49). Pour les coupes transversales et les systèmes de lamelles, point n'est besoin non plus de coupes très minces. Pour bien voir les lamelles il suffit d'examiner la coupe dans quelques gouttes d'eau distillée, en donnant au miroir une position telle que la préparation ne soit éclairée que par une de ses moitiés. C'est de la même manière qu'on réussit à voir les fins canalicules qui, partant des canaux de Havers, s'enfoncent perpendiculairement dans les lamelles (fig. 50). On monte dans la glycérine étendue d'eau, mais alors le système des lamelles disparaît en partie. Tous les systèmes ne se rencontrent pas dans n'importe quel point de l'os. Les lamelles fondamentales externes et internes manquent souvent.

Vient-on à pratiquer des coupes dans le voisinage des épiphyses, on voit la manière dont la substance compacte se continue avec le tissu spongieux. Les cavités et canaux osseux sont moins nets sur des préparations humides que sur les coupes usées et desséchées. Cette différence tient à ce que le liquide conservateur pénètre dans les cavités, et en chasse l'air. (Comparez fig. 47 et fig. 48.)

Les anneaux concentriques formés par les lamelles de Havers sont assez fréquemment interrompus dans leur continuité par une ligne irrégulière. Cette disposition est due à ce que la substance osseuse en dehors de cette ligne a été résorbée. Toute celle qui est en dedans est de formation nouvelle. C'est ainsi que l'on explique ces vacuoles connues sous le nom d'espaces de Havers (fig. 50, h).

**N° 24. Moelle osseuse.** — On se procure la moitié d'une vertèbre d'un veau qu'on vient de sacrifier. On râcle avec un scalpel la substance spongieuse, et des couches profondes de cette substance on prélève une certaine quantité de moelle rouge. Il n'est pas nécessaire d'en prendre de grandes quantités, il suffit de charger 2 ou 3 fois la pointe du scalpel. On met sur la lame de verre dans une goutte d'eau salée, on dissocie légèrement, on interpose un cheveu et on recouvre d'une lamelle. La présence de quelques petites parcelles de tissu spongieux empêche l'application exacte de la lamelle; il faut avoir soin de les enlever autant que possible avant de recouvrir la préparation. A un fort grossissement on voit, en dehors des petites parcelles osseuses déjà mentionnées, des cellules adipeuses, des corpuscules du sang, des cellules médullaires de grandeurs différentes, enfin des cellules géantes, dont les noyaux sont rarement visibles (fig. 51, 1). Si l'on dépose sur le bord de la lamelle quelques gouttes de micro-carmin, les noyaux se colorent, au bout d'une ou deux minutes on peut déjà les voir, mais ils sont encore pâles (fig. 51, 2). Si on remplace alors le micro-carmin par l'eau salée et ensuite par la glycérine étendue d'eau et acidifiée, les noyaux se foncent et marquent nettement leur contour (fig. 51, 3). L'interposition d'un cheveu empêche les cellules de fuir en dehors de la lamelle.

**N° 25. Cartilage articulaire.** — Pour l'étude de ce cartilage on choisit des têtes métacarpiennes d'individus adultes et l'on procède comme il a été indiqué au n° 23. On fait des coupes longitudinales que l'on conserve dans la glycérine diluée (fig. 53). Les stries parallèles qu'on rencontre souvent dans le cartilage hyalin sont dues au tranchant du rasoir. Les granulations du cartilage calcifié disparaissent par la décalcification.

**N° 26. Franges synoviales.** — Sur un cadavre aussi frais que possible on met à nu l'articulation du genou et on excise de sa capsule fibreuse sur le bord de la rotule un fragment de 4 cent. de côté. A l'aide des ciseaux on prélève de la face interne brillante de ce fragment une parcelle de 2 à 3 mm. qu'on place sur une lame dans une goutte d'eau salée, et l'on examine à un faible grossissement sans recouvrir d'une lamelle. On voit sur les bords de la préparation les franges dont les vaisseaux sanguins contiennent encore souvent des globules rouges; les noyaux brillants des cel-

lules épithéliales se trouvent serrés les uns contre les autres (fig. 54). Si l'on veut conserver la préparation, on recouvre d'une lamelle, on ajoute quelques gouttes de picro-carmin et l'on monte dans la glycérine étendue d'eau ; la préparation perd beaucoup de sa netteté.

**N° 27. Développement du tissu osseux.** — Ce développement peut être étudié sur des embryons humains âgés de 4 à 5 mois ou sur des embryons d'animaux tels que le mouton, porc ou bœuf. Leur longueur mesurée de la pointe du museau à la racine de la queue ne doit pas dépasser 10 à 14 cent. On se les procure facilement à l'abattoir, en demandant tous les utérus pleins. On met les embryons tout entiers dans le liquide de Müller (2 à 3 embryons par litre). On les y laisse séjourner un mois environ. Le liquide sera souvent renouvelé. On lave ensuite pendant 6 heures environ dans l'eau courante et l'on durcit dans 200 — 400 cent. cubes d'alcool progressivement renforcé (page 15). Après un séjour d'une semaine ou plus dans l'alcool à 90°, on coupe la tête et les extrémités tout près du tronc. Ces parties seront décalcifiées dans environ 200 cent. cubes d'eau distillée additionnée de 2 à 4 cent. cubes d'acide azotique pur. Quatre ou cinq jours après, pendant lesquels on a eu soin de changer le liquide de décalcification 2 à 3 fois (page 16) les extrémités (1) seront sorties du liquide, lavées pendant un temps variant de 4 à 6 heures à l'eau courante, et durcies de nouveau dans l'alcool progressivement renforcé. Après avoir passé 5 jours dans l'alcool à 90°, ces extrémités sont découpées en fragments de 1 cent. de longueur environ ; on les durcit, s'ils sont encore trop mous, dans 30 cent. cubes d'alcool absolu, pendant 1 ou 2 jours.

Pour étudier les premières phases du développement du tissu osseux (fig. 55, 56, 57) on pratique, sur les phalanges incluses dans du tissu hépatique, des coupes longitudinales, allant de la face antérieure à la face postérieure. S'il s'agit d'animaux, on prend les métacarpiens. Les coupes ne sont bonnes que si elles passent par l'axe de l'os ; les coupes périphériques donnent des images peu nettes. Pour l'étude des stades plus avancés elle se fait de préférence sur les coupes transversales de l'humérus et du fémur.

Les coupes passant par la diaphyse montrent mieux le tissu osseux péri-chondral, celles qui passent par les épiphyses sont préférables pour le tissu osseux enchondral. Les ostéoblastes les plus nets se voient sur des coupes transversales de la mâchoire inférieure, ces mêmes coupes peuvent servir à l'étude du développement des dents.

Pour les stades encore plus avancés on peut employer le squelette d'animaux nouveau-nés dont les phalanges présentent encore en partie des phases primaires du développement osseux (2). La décalcification est un peu plus longue, elle demande jusqu'à huit jours.

L'os *conjonctif* sera utilement étudié sur des coupes de l'occipital et du frontal d'embryons. On plonge ces coupes pendant 10 minutes dans 4 cent.

(1) La tête ne se décalcifie pas aussi rapidement. Il faut la laisser au moins deux jours encore dans la solution d'acide azotique à 2 pour cent.

(2) Les os du carpe sont encore aux premières phases.

cubes d'hématoxyline de Bœhmer, on les enlève pour les replonger pendant 10 autres minutes dans 10 cent. cubes d'eau distillée. Sorties de l'eau, les coupes seront colorées au picro-carmin (10 minutes dans 4 cent. cubes de picro-carmin) et laissées ensuite dans 10 cent. cubes d'eau distillée pendant un quart d'heure à une heure environ. On monte finalement dans le baume.

Si la coloration est réussie ; le cartilage est bleu, surtout au niveau des points décalcifiés, et l'os est rouge. Dans certains cas le cartilage se colore mal en bleu, il faut alors mettre les coupes non pas dans la solution ordinaire d'hématoxyline, mais dans 5 cent. cubes d'eau distillée auxquels on ajoute 5 gouttes d'hématoxyline filtrée pure. Après un séjour de 6 à 24 heures le cartilage sera d'un beau bleu. Le picro-carmin colore souvent d'une manière inégale la substance osseuse ; les parties les plus jeunes du tissu, le bord des trabécules sont colorés d'une manière plus intense.