

REMARQUES SUR LES TECHNIQUES MODERNES
DE MONTAGE RAPIDE DES INSECTES
ET L'UTILISATION DES RÉSINES POLYVINyliQUES
EN MICROSCOPIE

Par P. GRENIER et R. TAUFFLIEB (*)

Les déterminations spécifiques, en Entomologie, nécessitent de plus en plus, notamment en ce qui concerne les micro-Diptères, l'étude microscopique précise, précédées souvent de dissections longues et délicates, d'organes minuscules (genitalia ♂ et même ♀ ; armature bucco-pharyngée, etc...). On comprend que, dans ces conditions, les entomologistes se soient attachés, depuis longtemps, à la mise au point de techniques plus rapides que la vieille et toujours excellente méthode de montage dans le baume du Canada. Celle-ci exige, en effet, après un éclaircissement dans une solution de potasse ou de soude, des manipulations longues (élimination de la potasse, alcool à 90°, puis à 100°, xylol, baume).

Les méthodes de remplacement doivent répondre aux qualités suivantes : manipulations réduites au minimum, dissection facile dans la goutte de montage, durée indéfinie de la préparation sans qu'il soit besoin de la « luter ».

Sans avoir la prétention de faire ici œuvre d'une grande originalité, nous avons pensé, à la suite des nombreuses questions qui nous sont souvent posées, que certaines techniques modernes, dues surtout aux auteurs anglo-saxons et à peu près inconnues de nos collègues, mériteraient de leur être signalées. Nous désirons notamment appeler leur attention sur les résines polyvinyliques, dont nous avons modifié, dans une certaine mesure, l'emploi (**).

Les gommes. — Nous n'insisterons pas sur les méthodes de montage dans les gommes. Il en existe plusieurs formules (BERLESE, FAURE, MARC-ANDRÉ). Toutes nécessitent, notamment lorsqu'il s'agit de grosses pièces, le lutage de la préparation, soit avec un vernis cellulosique épais, soit avec une solution de rhodoïd dans l'acétone (RAGEAU, 1951), lorsque la préparation est parfaitement sèche, ce qui n'est pas toujours facile à obtenir dans les pays tropicaux.

(*) Séance du 12 décembre 1951.

(**) Nous ne mentionnerons pas ici certaines préparations commerciales très prisées de certains microscopistes mais dont les formules exactes n'ont pas été publiées. Il est à peu près impossible de se procurer ces produits en France (Euparal, Baume camsal, etc...).

G. R. S. T. O. M.

Collection de Références

n° 13084

12 MARS 1969

LES RÉSINES

A) *Résines naturelles modifiées.* — Le baume du Canada étant un des meilleurs milieux de montage, en raison de la permanence des préparations et de la possibilité de démonter celles-ci (même devenues très sèches) par passage dans le toluène ou le xylène, on s'est préoccupé d'adjoindre au baume une substance permettant de passer *directement* la pièce de l'alcool dans la goutte de montage. Ces procédés sont les suivants :

1° *Baume-créosote* (J. F. WANAMAKER, 1944). — On le prépare en ajoutant au Baume, doucement chauffé pour en éliminer le xylène s'il en contient, la quantité de créosote nécessaire pour obtenir la fluidité désirée. On peut passer directement la pièce, de l'alcool à 90° ou à 95°, dans ce baume créosoté. La préparation a tous les avantages du Baume ordinaire. Nous utilisons couramment cette technique qui nous a toujours donné toute satisfaction.

2° *Baume-phénol* (D. H. COLLESS, 1950). — Au baume préalablement chauffé, on ajoute pendant le refroidissement, du phénol, jusqu'à consistance désirée. Les larves de moustiques (pour lesquelles ce milieu a été créé) sont passées directement de l'alcool à 95° dans la goutte de montage. L'éclaircissement et le séchage sont obtenus en quelques jours. Pour obtenir un meilleur éclaircissement on peut passer les pièces dans l'hydrate de chloral (18 g. pour 20 cm³ H₂O) ou l'acide acétique à 30 o/o ; les laver ensuite dans l'alcool à 90° (24 heures) puis passer dans une solution de phénol, avant de monter dans le baume-phénol. COLLESS ajoute que l'on peut remplacer le baume-phénol par la résine de pin en solution dans le phénol.

3° *Résine de pin. Huile d'Eucalyptus* (BHATIA, 1948). — 50 g. de résine de pin cristallisée sont dissous dans 74 cm³ d'huile d'Eucalyptus. On décante. Les larves de moustiques sont montées directement (de l'alcool à 95°) dans ce milieu. L'éclaircissement est réalisé en 1/2 heure et le séchage en 2 à 3 jours. Il n'est pas nécessaire de luter.

Nous n'avons pas expérimenté ces deux dernières techniques, le baume-créosote nous ayant donné toute satisfaction et ses constituants étant faciles à se procurer (*).

4° *Chloral phénol-baume.* — Le chloral phénol d'Amann (ou le chloral chlorophénol) est un liquide miscible aussi bien avec l'eau qu'avec le baume. Il permet, après un séjour plus ou moins prolongé, le passage *direct* dans le baume. Cette méthode, extrêmement rapide, un peu oubliée, n'est cependant valable que pour les organismes peu opaques (certaines larves de Diptères).

(*) Nous mentionnerons une technique récemment préconisée par BALACHOWSKY et GOSSELIN (1950) pour les Cochenilles et Pucerons. Elle consiste à passer les pièces dans l'essence de Lavande qui est miscible dans le baume. On peut ainsi éviter le passage dans le xylol avant de monter dans la goutte de baume.

B) *Résines synthétiques*. — Au cours de ces dernières années, les auteurs de langue anglaise ont utilisé avec succès des résines synthétiques, dont l'emploi, comme milieu de montage microscopique, est fort peu connu dans les laboratoires français.

LANGERON (*Précis de microscopie*, 1940, p. 699) qui mentionne les différentes formules, ajoute « il s'agit malheureusement d'essais heureux pratiqués par des opérateurs ayant eu la chance de pouvoir se procurer les produits nécessaires. Tant que ces produits ne seront pas en vente libre et accessibles à tout le monde, ils ne présenteront qu'un intérêt théorique ». Ce point de vue, valable lors de la rédaction de l'ouvrage, est maintenant périmé. Ces techniques sont des plus intéressantes; elles réunissent, en effet, les qualités essentielles suivantes: 1° suppression de la déshydratation; 2° aucun durcissement des pièces, donc possibilité de dissection; 3° permanence de la préparation qui n'a pas besoin d'être lutée. A l'heure actuelle les produits nécessaires se trouvent dans le commerce: ce sont les alcools polyvinyliques (P. V. A.) vendus sous le nom d'*alvyls* (Nobel française) et *Rhodoviols* (Rhône-Poulenc).

Personnellement nous utilisons le *Rhodoviol HS 10*, qui se présente sous la forme de paillettes. On prépare la solution de la façon suivante: le produit (20 o/o) est laissé une nuit dans l'eau froide; le lendemain matin on place le tout au bain-marie, le *Rhodoviol HS 10* étant soluble vers 60° C. On chauffe en agitant. Quand la dissolution est terminée, on filtre et on laisse refroidir. La solution a alors la consistance d'un sirop épais. On prépare alors le mélange suivant (DOWNES, 1942) (*).

56 parties, en volume, de PVA ainsi préparé;

22 parties, en volume, de phénol;

22 parties, en volume, d'acide lactique.

Il arrive qu'en se refroidissant le mélange ainsi préparé se trouble. Nous avons constaté, que pour obtenir la clarification, il suffisait d'ajouter de l'acide lactique, par petite quantité, en chauffant au bain-marie après chaque adjonction et en laissant refroidir ensuite.

Ce milieu permet le montage *direct* (sans éclaircissement préalable ni déshydratation) des petits insectes ou acariens suffisamment transparents. On peut accélérer l'éclaircissement en chauffant avec précaution la préparation montée. Le durcissement se fait rapidement. Si les insectes montés sont un peu épais, il peut se

(*) Cette solution de PVA dans l'eau permettrait d'examiner des larves de moustiques vivantes, sans les tuer.

produire une rétraction du milieu et il est nécessaire d'ajouter alors un peu de PVA, quelques jours plus tard.

Personnellement, nous avons adopté, pour les pièces pas trop opaques, la technique suivante :

- 1) Eclaircissement et ramollissement à chaud (10 minutes environ) dans le liquide 1 de M. ANDRÉ (H^2O : 30 cm^3 + hydrate de chloral : 40 g. + acide acétique crist. : 30 cm^3);
- 2) passage direct dans le milieu de montage (PVA + lacto-phénol).

Si les pièces sont trop opaques nous les passons dans la solution de potasse ou de soude, puis dans le liquide n° 1 de MARC ANDRÉ (ce liquide contient de l'acide acétique) et enfin, *directement* dans la goutte de montage (PVA-lacto-phénol).

La dissection, si elle est nécessaire, se fait alors dans la goutte de montage et la lamelle est placée sur l'objet disséqué.

Il est également possible d'utiliser le chloral-phénol pour éclaircir et ramollir la pièce, avant de la monter dans le PVA.

Il faut prendre bien soin de n'inclure aucune bulle d'air dans la préparation au cours des manipulations. Si cela ne peut être évité, il est nécessaire d'éliminer les bulles avant de recouvrir avec la lamelle. On peut aussi chauffer doucement la préparation montée entre lame et lamelle, en l'inclinant légèrement.

Nous ajouterons, pour terminer, que l'alcool polyvinylique a été utilisé également pour protéger les frottis de sang colorés par les colorants du type ROMANOWSKY (GIEMSA, etc...). DOWNES (*loc. cit.*) utilise le PVA en solution dans l'eau : une légère couche est étendue sur toute la surface colorée et, une fois sèche, résiste à l'huile de cèdre, au xylène ou au toluène. RAGEAU, récemment (1951), pour le même usage, a utilisé avec succès une solution de rhodoïd dans l'acétone, dont la préparation est extrêmement facile.

(Institut Pasteur
et Office de la Recherche Scientifique d'Outre-mer).

BIBLIOGRAPHIE

- BALACHOWSKY (A.) et GOSSELIN (M. T.). — *L'Entomologiste*, 1950, 2, 40.
BHATIA (M. L.). — *Ind. Jl. Malariology*, 1948, 2, n° 4, 283-284.
DOWNES (G. W.). — *Science*, 1943, 97, 539.
LANGERON (M.). — *Précis de Microscopie*, Masson édit., Paris, 1949.
RAGEAU (J.). — *Ann. Parasitol. hum. et comp.*, 1951, 26, n° 4 (notes et informations).
WANAMAKER (J. F.). — *Amer. Jl. Trop. Med.*, 1941, 24, 385.