

Fixateurs à base d'acide picrique *Mélange de Duboscq-Brasil* *Fixateur de Hollande*

1. NATURE DES FIXATEURS :

Il s'agit de fixateurs à base d'acide picrique. Celui-ci, seul et en solution saturée aqueuse ou alcoolique, n'est pas un bon fixateur malgré son grand pouvoir de pénétration et de précipitation.

Quelques mots de l'acide picrique, de formule $C_6H_3O_7N_3$, qu'on appelle aussi trinitrophénol ou trinitro 2-4-6 phénol. Il est aussi appelé amer de Welter, jaune amer, amer d'indigo. Le mot « amer » fait référence à sa grande amertume. Comme d'autres phénols, il est appelé « acide » à tort... Sous sa forme cristallisée, il est de couleur jaune clair.

2. PREPARATION :

Fixateur de Hollande

Acide acétique cristallisable :	1,5 ml
Eau bidistillée :	100 ml
Acétate neutre de cuivre :	2,5 g
Trinitrophénol :	4 g
Formol à 40 % :	10 ml

- Mélanger les composants dans l'ordre strictement indiqué.
- L'acétate de cuivre accroît la solubilité de l'acide picrique (trinitrophénol) et permet d'en dissoudre jusqu'à 5 % à froid, alors que sa solubilité normale est de l'ordre de 0,6 à 0,75 % dans l'eau distillée.
- Il a aussi pour effet de diminuer la concentration ionique et de diminuer l'effet direct de cette ionisation à savoir un excès de gonflement du matériel à fixer ; en dernier, il empêche la précipitation lors de l'ajout du formol.

Mélange de Duboscq-Brasil

Acide acétique cristallisable :	15 ml
Formol à 40 % :	60 ml
Trinitrophénol :	4 g
Alcool à 80° :	soit 2,66 g acide picrique/100 cc d'alcool 150 ml

Il est bon de le préparer au moment de l'emploi en mélangeant les 3 composants indiqués ci-dessus et en ayant la solution alcoolique d'acide picrique en réserve à 1 goutte d'acide acétique + 4 gouttes de formol + 10 gouttes d'acide picrique alcoolique mélangés dans une coupelle où on placera l'élément à fixer.

La formule peut être améliorée comme suit, selon LENOIR : (pour la fixation du cytoplasme)

Acide acétique à 22 % saturé de trinitrophénol :	10 cc
Bichromate de potasse à 12 % :	10 cc
Formol à 40 % :	10 cc
Alcool à 95 % :	20 cc

Il me paraît important de signaler que pour manipuler des pièces conservées ou traitées au formol sans être incommodé, il suffit de les rincer puis de les passer dans l'eau ammoniacale à l'odeur caractéristique du formol disparaît !

3. UTILISATION :

La fixation est une technique microscopique qui a pour but de tuer des cellules vivantes, en les conservant autant que possible, dans l'état qu'elles affichaient en étant en vie. Le fixateur idéal doit donc immobiliser la cellule sans faire apparaître des détails de structure artificiels, causés par la fixation. Malheureusement, l'idéal n'existe pas et certaines modifications secondaires apparaissent. Un fixateur agit en solidifiant par coagulation et précipitation.

L'usage d'un fixateur s'avère très intéressant par exemple pour la séparation des **Stichobasidiés** et **Chiastobasidiés** (voir R. Kühner "Les Hyménomycètes agaricoïdes" pages 662 et suivantes).

Schématiquement, le fuseau de la division est en effet +/- longitudinal et au milieu de la baside pour le premier et +/- transversal et au sommet de la baside pour le second. En réalité, c'est surtout la position des fuseaux des divisions dans la baside qui détermine les deux types.

Voici une technique rappelée dernièrement par Maxime CHIAFFI sur Mycologia Europaea (forum de discussion) : « ... »

- Immersion dans l'alcool éthylique absolu pendant 24 heures (j'ai fait des essais en réduisant ce temps pour pouvoir faire les observations dans la même journée, sans inconvénient).
- Fixation dans le Picroformol de Duboscq Brasil (1 à 2 heures) beaucoup plus rapide que le Picroformol de Bouin ou le liquide de Hollande
- Lavage dans l'eau.
- Immersion dans le Carmin acétique pendant 1 heure (on peut réduire selon les préparations)
- Procéder comme pour la mise en évidence des granulations sidérophiles (faire bouillir dans le carmin, agitant avec un fil de fer - pour ma part, j'utilise quelques petits grains de vieux sulfate de fer qui tombe en poussière -- dilacérer et monter dans le Carmin acétique). Les noyaux sont plus ou moins rouges. ... »

Personnellement, nous ne voyons pas l'utilité de placer la coupe dans l'alcool absolu, car en laissant celle-ci dans le mélange de Duboscq-Brasil durant 24 heures, le résultat obtenu sera semblable.

4. DANGERS :

L'acide picrique cristallisé est très sensible aux chocs et au feu. Ne JAMAIS le mélanger à de la glycérine car il donne un produit hautement explosif : la trinitroglycérine (dynamite). Sa molécule hydrocarbonée contient beaucoup d'oxygène ce qui permet une éventuelle auto-combustion avec explosion, mais moins violente que dans la dynamite.

En solution aqueuse, il tache fortement la peau et les vêtements (les taches faites sur le coton, la laine et la soie, sont indélébiles). Sous cette forme, il n'est plus explosif ; il se révèle toxique per os, sous n'importe quelle forme.

5. CONSERVATION :

De longue durée pour l'acide picrique, à condition de le placer dans des flacons bien fermés, à l'abri du feu et protégé des chocs.

Le fixateur de Hollande se conserve indéfiniment.

Le mélange de Duboscq-Brasil doit se présenter sous 3 flacons séparés à mélanger de manière extemporanée, car il se conserve peu de temps (1 à 2 mois... à expérimenter pour de plus longues durées !)