

CHAPITRE VII

MATIÈRES COLORANTES.

La coloration des microbes qui a réalisé un si remarquable progrès dans la technique bactériologique, et à laquelle s'attachent les noms de Weigert, Koch, Ehrlich, Gram, Kühne, etc., s'effectuera à l'aide des *couleurs d'aniline*.

Ces couleurs, Ehrlich les a divisées en deux classes : couleurs basiques et couleurs acides.

Le tableau ci-dessous énonce, en les catégorisant d'après le principe d'Ehrlich, les principales matières colorantes qu'emploie la technique usuelle.

Couleurs d'aniline.	A. COULEURS BASQUES..	Rouges. {	Fuchsine.
			Rubine.
			Rouge diamant.
		Violet.. {	Violet de gentiane.
	Violet de méthyle (1 B, 5 B, 6 B).		
		Krystall-violet.	
		Violet dahlia.	
		Thionine ou violet de Lauth.	
	Bleu... {	Bleu de méthylène.	
		Bleu Victoria.	
	Vert...	Vert de méthyle.	
		Vésuvine.	
		Brun de Bismarck.	
	B. COULEURS ACIDES.... {	Éosine.	
		Tropæoline.	
		Fluorescéine.	

C'est dans la classe des couleurs basiques qu'il faut chercher les matières d'élection pour la coloration des microbes.

Les couleurs basiques à teinte rouge, violette, bleue sont d'un emploi courant. Le vert de méthyle n'a que des usages restreints. La vésuvine et le brun de Bismarck sont plutôt des couleurs de fond ; elles colorent avec peu de puissance la plupart des microbes.

Les couleurs acides sont des couleurs de fond, qui n'ont pas d'élection spéciale pour les microbes : leur usage est donc secondaire, accessoire, mais nous montrerons qu'il n'est pas à négliger, et qu'il concourt à la clarté et à la valeur démonstrative des préparations.

Toutes ces couleurs se trouvent dans le commerce sous forme de poudres ou de cristaux.

On en fait : des solutions alcooliques saturées, véritables solutions mères ; des solutions hydro-alcooliques.

Enfin elles entrent dans la composition des solutions complexes imaginées par divers auteurs, et connues en général sous les noms de ces auteurs.

A. *Solutions alcooliques saturées.* — On met dans un flacon bouché à l'émeri une assez grande quantité de la couleur voulue en poudre ou en cristaux, puis on verse de l'alcool à 90° ou de l'alcool absolu : celui-ci dissout une partie de la poudre ; la saturation est indiquée par le dépôt que forme au fond du flacon l'excès de matière colorante.

B. *Solutions hydro-alcooliques.* — On les emploie, comme cela sera dit longuement au chapitre suivant, dans le but d'obtenir des *colorations instantanées*.

Pour les préparer, on prend un verre de montre

propre dans lequel on verse de l'eau distillée. On colore cette eau au moyen de deux ou trois gouttes d'une solution alcoolique saturée d'une couleur d'aniline quelconque : rouge, violette, bleue ou brune.

Ces solutions doivent être préparées au moment précis de l'usage et doivent donner un liquide plutôt pâle que foncé en couleur. Pour puiser la solution alcoolique saturée, on fait usage d'une pipette propre.

C. *Solutions complexes*. — Il en existe un nombre considérable.

Les suivantes méritent surtout de retenir l'attention :

1. *Bleu Löfster*. — Mêlez ensemble.

Potasse au 1/10000 ^e	3 cent. c.
Solution alcoolique de bleu de méthyle...	1 —

2. *Bleu phéniqué de Kühne*. — « 1,5 partie de bleu de méthylène sont versés dans un mortier avec 10,0 parties d'alcool absolu. On ajoute successivement et régulièrement 100,0 parties d'une solution à 5 p. 100 d'acide phénique dans l'eau. Le tout est broyé et dissous en évitant les chocs violents. Si l'on ne doit pas faire fréquemment usage de cette solution, ne préparer que la moitié de la quantité susdite, parce que, à la longue, la puissance colorante du bleu de méthylène peut s'amoindrir. » (Kühne.)

Nous préparons ordinairement le bleu de Kühne un peu plus fort que ne l'indique l'auteur, et nous croyons avoir trouvé des avantages à ce mode de préparation :

Bleu de méthylène.....	2 gr.
Alcool absolu.....	10 —
Eau phéniquée à 5 p. 100.....	50 —

3. *Violet phéniqué de Nicolle*.

La formule est la suivante :

Solution saturée de violet de gentiane dans l'alcool à 95°.....	10 cent. c.
Eau phéniquée à 1 p. 100.....	100 —

4. *Thionine phéniquée de Nicolle* :

Solution saturée de thionine dans l'alcool à 50°.....	10 cent. c.
Eau phéniquée à 1 p. 100.....	100 —

5. *Liqueur de Ziehl* :

Fuchsine.....	1 gr.
Alcool absolu.....	10 —
Eau phéniquée à 5 p. 100.....	100 —

Cette formule est exactement celle que Kühne a donnée à sa préparation de *fuchsine phéniquée*.

6. *Liqueur d'Ehrlich*. — On peut la préparer soit à la fuchsine ou rubine, soit au violet de gentiane.

A. Mêlez ensemble :

Eau d'aniline.....	9 cent. c.
Alcool absolu.....	1 —
Solution alcoolique saturée de fuchsine ou de rubine.....	1 —

B. Mêlez ensemble :

Eau d'aniline.....	9 cent. c.
Alcool absolu.....	1 —
Solution alcoolique saturée de violet de gentiane (violet 6 B ou de krystall-violet).....	1 —

7. *Liqueur de Gram* :

Eau d'aniline.....	10 cent. c.
Alcool absolu.....	1 —
Solution alcoolique saturée de violet de gentiane (krystall-violet, etc).....	1 —

PR. DE MICROBIE. 10

L'eau d'aniline, dont l'emploi est fréquent en technique microbique, se prépare de la façon suivante : On place dans un flacon de verre coloré une quantité d'huile d'aniline suffisante pour remplir le quart du flacon : on remplit ensuite le flacon d'eau distillée et l'on agite fortement. On laisse déposer. L'excès d'huile tombe au fond du récipient et supporte l'eau chargée d'huile, à laquelle on donne le nom « d'eau d'aniline ».

Toutes ces solutions, à l'exception des liqueurs de Ziehl, Kühne et Weigert, quelles qu'elles soient, doivent être préparées au moment précis où l'on doit s'en servir, et doivent être filtrées avant d'être versées dans le verre de montre. Elles sont d'un usage général; nous indiquerons plus tard celles qui sont d'un emploi spécial.

La technique des colorations de microbes emploie certaines autres substances dont nous énumérons les principales ci-après :

Les carmins. — Le carmin dont on fait usage est connu dans le commerce sous le nom de carmin numéro 40. On en fait les préparations suivantes :

1° *Carmin boracique.* — A une solution à 4 p. 100 de borax, ajoutez 4 p. 100 de carmin et chauffez deux fois à ébullition; ajoutez au liquide chaud quantité égale d'alcool à 70°; laissez reposer et filtrez au bout de cinq jours.

2° *Picro-carmin* de Ranvier. — « On verse dans une solution saturée d'acide picrique du carmin dissous dans l'ammoniaque jusqu'à saturation; puis on évapore dans l'étuve après réduction des quatre cinquièmes; la liqueur refroidie abandonne un dépôt peu riche en carmin, qui est séparé par filtration. Les eaux mères évaporées donnent le picro-carminate solide, sous la forme d'une poudre

crystalline de la couleur de l'ocre rouge. Cette poudre doit se dissoudre entièrement dans l'eau distillée. Une solution au centième est la plus convenable. » (Ranvier.)

3° *Picro-carmin* de Orth :

Eau saturée de carbonate de lithine.....	100 gr.
Carmin.....	2 ^{gr} ,50
Eau saturée d'acide picrique.....	qs.

Les essences. — Elles servent comme liquides ou simplement pour éclaircir les préparations.

On emploie : E. de girofle, E. de bergamote. Huile de cèdre.

Des essences il faut rapprocher l'huile d'aniline blanche, qu'on conservera en flacons colorés.

Xylol ou *xylène.*

Les baumes. — Baume du Canada, baume du Pérou, qu'il faut dissoudre secs dans le xylol : il faut rejeter les baumes dissous dans le chloroforme.

La résine dammar remplit le même but que ces baumes.